

厚生労働科学研究費補助金

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
(肝炎関係研究分野)

肝疾患病態指標血清マーカーの開発と迅速、簡便かつ
安価な測定法の実用化
(H23-実用化(肝炎)-一般-011)

平成 23 年度～25 年度 総合研究報告書

研究代表者 成松 久

平成 26 (2014) 年 5 月

目次

・ 総合研究報告	1
肝疾患病態指標血清マーカーの開発と迅速、簡便かつ安価な測定法の実用化	
＜研究代表者＞ 成松 久	
＜研究分担者＞ 溝上雅史, 田中靖人, 伊藤浩美, 伊藤清顕, 八橋 弘, 坂元亨宇, 武富紹信, 髭修平, 上野義之, 泉 並木, 松本晶博, 市田隆文, 熊田 卓, 日野啓輔, 阿部雅則, 調 憲, 梶 裕之, 久野 敦, 梅谷内晶, 佐藤 隆, 米田政志, 今井康陽, 是永匡紹	
＜研究協力者＞池田 均	
・ 総合分担研究報告	
1. 新規肝疾患病態指標マーカーの簡易測定系開発	3
成松 久	
2. 慢性肝疾患における非侵襲的肝線維化診断法と 新規糖鎖抗原線維化マーカー(WFA ⁺ -M2BP)の有用性の検討	11
溝上雅史	
3. 肝線維化糖鎖抗原マーカー(WFA ⁺ -M2BP)の非侵襲的肝線維化診断法との 乖離例の検討	19
是永匡紹	
4. C型慢性肝炎における WFA ⁺ -M2BP を用いた非侵襲的肝線維化 および発癌リスク評価に関する研究	24
泉 並木, 黒崎雅之, 玉城信治	
5. C型肝炎関連肝細胞癌患者における新規肝糖鎖マーカー(WFA ⁺ -M2BP)の 線維化診断精度、治療後の早期再発予測因子としての有効性の検討	30
今井康陽, 澤井良之, 倉橋知英	
6. 肝線維化における新規血清マーカーとしての 糖鎖(WFA ⁺ -M2BP)の有用性の検討	38
調 憲, 前原喜彦, 戸島剛男, 吉屋匠平	
7. 血清 WFA ⁺ -M2BP を用いた肝細胞癌患者における 肝線維化および術後予後予測	41
武富紹信	

8. B型肝炎の自然経過例および核酸アナログ治療例における 線維化マーカーの変化	45
松本晶博	
9. C型肝炎患者における WFA+-M2BP 測定の有用性： 肝線維化診断能と発がん予測能	48
市田隆文, 玄田拓哉	
10. 新規肝線維化マーカーWFA+-M2BP と肝発癌に関する解析	52
八橋 弘, 山崎一美, 佐々木龍	
11. 肝硬変の病因と WFA+-M2BP 値の異同 (C型肝炎硬変と NASH 肝硬変)	56
髭 修平	
12. (1) NAFLD における WFA+-M2BP の線維化予測に対する有用性 (2) NAFLD における耐糖能異常と肝線維化	61
日野啓輔	
13. NAFLD における血清 WFA+-M2BP の線維化予測に対する有用性	65
阿部雅則, 今井康陽, 日野啓輔, 髭 修平, 坂元亨宇, 山田剛太郎, 鹿毛政義, 是永匡昭, 三宅映己, 日浅陽一	
14. 原発性胆汁性肝硬変における疾患特異的遺伝子発現の基礎検討	68
上野 義之	
15. 肝硬変における新規糖鎖マーカーWFA+-CSF1R の臨床的有用性	72
田中靖人, 飯尾悦子	
16. 肝発癌例と非発癌例での血中 WFA+-M2BP と WFA+-CSF1R の検討 - 発癌 3 年前の血清マーカーからの検討 -	78
熊田 卓, 豊田秀徳, 多田俊史	
研究成果の刊行に関する一覧表	87
研究成果の刊行物・別刷	127

総合研究報告書

肝疾患病態指標血清マーカーの開発と迅速、簡便かつ安価な測定法の実用化

成松 久 産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター長

研究要旨：【研究目的】C型慢性肝炎患者の多くは、肝線維化が進展し、肝硬変を経て、やがて肝がんを発症する。この慢性肝炎の治療には抗ウイルス療法が適用されるが、その効果判定や肝硬変、肝がんハイリスク群の囲い込みには肝線維化の程度を知ることが重要である。しかしその判定は高侵襲性の生検によるため、臨床上の隘路となっている。また、現行の肝がんマーカーでは、早期発見は難しい。我々はこれまでに肝臓由来血清糖タンパク質の糖鎖構造が、肝疾患の進展に伴って変化することに着目し、肝線維化および肝がんマーカーの候補糖タンパク質を多数見いだした。本研究では、肝線維化マーカー WFA⁺-M2BP について血清を用いた測定法を確立し、多施設・多検体での有効性検証を行って実用化を図る一方、並行して新たな肝疾患病態指標マーカーの探索とその正当性検証を目的とする。

【結果と考察】線維化マーカー WFA⁺-M2BP の有効性検証については、参画する臨床機関・大学から、他の非侵襲的肝線維化測定技術との比較や肝細胞がん危険群の囲い込みへの応用など 15 の研究課題が提案され、総数約 6000 サンプルを測定した。その結果、本線維化マーカーの有効性・特性が明確になった。新規肝疾患病態指標マーカー開発の課題で見出した複数の候補のうち、がんマーカー候補として最初に発見され、測定法を確立した WFA⁺-CSF1R (H1-12) については、臨床試料を用いた小規模有効性検証を実施し、肝硬変患者の予後及び発がん予測に利用できる可能性を見出した。また、多種の培養細胞株の糖鎖プロファイル分析の結果から、AFP 非産生肝がんに関連するプロレクチンが見出され、これに結合する糖タンパク質を系統的に同定し、AFP 非産生細胞株で優先的に見出される候補タンパク質を選出した。さらに、背景肝の病態が異なる複数の肝がん組織標本を対象としたレクチンアレイによる比較糖鎖解析を行った。がん部・非がん部組織領域について解析を行った結果、がん部で有意にシグナル強度が増すレクチン X をみとめ、組織染色により、レクチン X はがん細胞の特定領域を染めることが判明した。

【結論】新規線維化マーカー WFA⁺-M2BP の臨床的有用性が見出された。保険収載へ向けた肝線維化検査のガイドラインの提案が期待できる。がんマーカーについては、AFP や PIVKAI Ⅱ など、既存のものとは異なる用途が期待できる候補分子が複数同定された。今後の有効性検証試験の結果が待たれる。

研究分担者

溝上雅史 国立国際医療研究センター・肝炎・免疫研究センター長

田中靖人 名古屋市立大学大学院・医学研究科・教授

伊藤浩美 福島県立医科大学・医学部・生化学講座・助教

伊藤清顕 愛知医科大学・医学部・准教授

八橋 弘 長崎医療センター・臨床研究センター長

坂元亨宇 慶應義塾大学・医学部・病理学・教授

武富紹信 北海道大学大学院・医学研究科・消化器外科学分野Ⅰ・教授

髭 修平 札幌厚生病院・第3消化器内科・主任部長

上野義之 山形大学・内科学第二講座・教授

泉 並木 武蔵野赤十字病院・副院長

松本晶博 信州大学医学部附属病院・肝疾患診療相談センター・准教授

市田隆文 順天堂大学医学部附属静岡病院・消化器内科・教授

熊田 卓 大垣市民病院・副院長

研究分担者 (つづき)

日野啓輔 川崎医科大学・肝胆膵内科学・教授

阿部雅則 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・准教授

調 憲 九州大学大学院・医学研究院・消化器・総合外科・准教授

米田政志 愛知医科大学・内科学講座・教授

今井康陽 市立池田病院・病院長

是永匡紹 国立国際医療研究センター・肝炎・免疫研究センター・肝疾患研修室長

梶 裕之 産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター・研究チーム長

久野 敦 産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター・上級主任研究員

梅谷内晶 産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター・主任研究員

佐藤 隆 産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター・研究員

研究協力者

池田 均 東京大学医学部附属病院・検査部・副部長

新規肝疾患病態指標マーカーの簡易測定系開発
成松 久 産業技術総合研究所・糖鎖医工学研究センター長

研究要旨：新規肝疾患病態指標マーカーを以下のように探索、測定系開発、および有効性検証したので報告する。(1) 培養肝がん細胞培地及び肝がん患者血清の分析から選別された候補糖タンパク質（コード名 H1-12: WFA⁺-CSF1R）について、測定系を整え、課題 2 の実用化研究における臨床機関研究分担者によって準備された患者試料を用いて有効性検証を行った。(2) AFP 非産生肝がん細胞群に相関するレクチンを選別し、肝がん細胞培養液より、このレクチンに結合する糖タンパク質を捕集し、同定した。健常肝臓、肝がんでの発現などの情報を収集して統計解析し、検証するマーカー候補を選別し、小規模検証した。(3) 肝がん組織標本（切片）を用い、病巣微小領域のグライコームをレクチンアレイ分析でプロファイルして、がん性糖鎖に関連するレクチンを選別し、これを用いて組織染色を実施した。(4) 肝線維化マーカー WFA⁺-M2BP の測定標準品とするリコンビナントタンパク質に結合している糖鎖構造を分析し、WFA 結合性構造 (LacdiNAc) の存在が確認された。

A. 研究目的

現在肝がんは早期発見できれば 5 年生存率が 6 割を超えているが、肝がんマーカー AFP、AFP-L3、PIVKA-II による早期がん検出の正診率は 7-8 割に留まり、高価な CT、MRI、超音波機器を駆使しているのが現状である。申請者らは生体における各種糖タンパク質は、それを生成する組織・細胞の分化度や障害の程度により、結合している糖鎖の構造が異なることを、各種糖鎖関連解析技術を開発することで明らかにしてきた。さらに肝臓については、肝がんの発症リスクと関連する肝線維化の程度を反映する複数の糖タンパク質と新規肝がん血清マーカーになりうる糖タンパク質候補を見出してきた。本課題では、後者の新規マーカー候補（先行候補 H1-12）について、迅速、簡便かつ安価な測定法を確立し、臨床的有效性を検証すること、および並行して、異なる新しい用途に適用可能な新

規肝がんマーカー候補の探索、および正当性検証を行うことを目的とする。さらに、課題 2 において有効性検証の進められているマーカー糖タンパク質 (WFA⁺-M2BP) の糖鎖構造を同定し、原理検証の一助とする。

B. 研究方法

(1) 肝がんマーカー候補糖タンパク質の測定系の確立、正当性検証：肝がん細胞株の培養液および HCC 患者血清より、がん性糖鎖変化を示した糖鎖マーカー候補分子を探索し、その中から、レクチンクロマトグラフィー、免疫組織学的解析、レクチンアレイ解析等の糖鎖解析技術を応用し、血清マーカー候補分子 H1-12 (CSF1R) を絞り込んだ。この分子に対する抗体とレクチン (WFA) とのサンドイッチ ELISA 系を構築し、適切に肝生検・病理診断された HCV 感染肝炎・肝硬変および肝細胞が

ん患者の血清（150 検体程度）を対象に小規模な有効性検証を行った。また、肝臓の組織切片を、CSF1R 分子に対する抗体およびレクチンで免疫蛍光組織染色した。なお、この検証に用いた全ての血清サンプルと組織サンプルの収集と使用については、インフォームドコンセントにより患者（試料提供者）からの同意が得られている。またすべての試料の使用は、サンプル収集機関および研究実施機関の各倫理審査委員会で承認されている。

(2) 新規肝がんマーカーの探索：分化度や AFP 生産性の異なる複数種の肝がん細胞株の培養液および膜画分をレクチンマイクロアレイ法で分析し、得られた糖鎖プロファイルに基づき、AFP 産生の低い細胞株群に相関するレクチンを選択し、このレクチンに結合する糖タンパク質を系統的に同定した。さらに同定された糖タンパク質プロファイルの比較から、AFP 非産生肝がんのマーカー候補を分類整理して絞り込んだ。次に絞り込んだマーカー候補から公共データベースの DNA マイクロアレイデータを利用し、データマイニングし、候補分子を絞り込んだ。さらに統計解析の結果、糖鎖修飾部位の数、文献情報等を利用して正当性検証を進める際の順位付けを行った。並行して、培地より当該レクチンで糖タンパク質を捕集し、SDS ゲル電気泳動で分離後、顕著に観察された結合タンパク質を質量分析により同定した。抗体が取得可能であるものについては正当性検証を進めた。

(3) 肝細胞がん症例組織標本のレクチンアレイ解析：肝細胞がんと線維化部位を判別可能なマーカーを探索するため、ウイルス性肝炎を背景に持つ肝がん患者の組織で、同一組織標本中にがん部位と線維化部位の両方を含むパラフィンブロックを北海道大学より供与頂いた。ま

た、非ウイルス性肝がん患者のがん部と非がん部の凍結組織を北海道大学と九州大学より供与頂いた。これらの組織ブロックから組織切片を作製してレーザーマイクロダイセクションを活用した解析に用いた。ホイルコートスライドへ 5 μm 厚薄切組織をマウントし、脱パラフィン処理後、レーザーマイクロダイセクション法により、がん部および非がん部肝実質細胞領域を 1mm² の領域ずつ単離した。得られた組織片を 1.5 mL 容マイクロチューブへ移し、松田らの手法にしたがって前処理してタンパク質溶液を得た。Cy3 標識後、一部をレクチンアレイ解析に用いた。シグナル取得後、画像解析ソフトにより数値化し、データを規格化後、GraphPad Prism5 により統計解析し、対応ありの 2 群比較により $P < 0.05$ を示すレクチンを選別し、がんを見分けるレクチン候補分子とした。レクチン候補の有用性は肝がん患者組織切片を用いたレクチン組織染色により確認した。脱パラフィン処理した組織切片に対し、最適濃度に希釈したビオチン化レクチンを添加し、洗浄後、Alexa488 標識ストレプトアビジンを加え、蛍光顕微鏡を用いて観察した。

(4) マーカータンパク質の糖鎖解析：肝線維化の糖鎖バイオマーカーとして開発している M2BP について、その自動測定におけるキャリアプラントして利用するリコンビナント M2BP の糖鎖構造を質量分析により分析した。このマーカーの検出には糖鎖プローブとしてレクチン WFA が用いられているので、このレクチンによって M2BP 由来の糖ペプチドを捕集し、それぞれの糖鎖の構造解析を行った。

C. 研究結果

(1) 肝がんマーカー候補糖タンパク質 WFA⁺-CSF1R の測定系の確立、正当性検証：肝生検・病理診断された HCV 感染肝炎・肝硬

変および肝細胞がん患者の血清（約 150 検体）を対象に小規模な有効性検証を行った。統計解析の結果、(i) 肝硬変患者群では、肝細胞がんを発症した患者群と非がん患者群との間に有意差が認められない事、(ii) 肝硬変患者群では、予後予測が可能である可能性を示した（詳細については分担研究者・名古屋市立大学・田中靖人の項を参照）。マーカーの臨床上的有用性については今後の検討を要する。免疫蛍光染色組織染色の結果からは、CSF1R 分子とレクチンの認識する糖鎖エピトープの局在が明らかとなった。

(2) 新規肝がんマーカーの探索：AFP 産生の低い細胞株 3 種、および高い株 3 種の培養上清を準備し、AFP 低産生細胞株群に相関するレクチンを用いて、これに結合する糖タンパク質を同定した。具体的には、各培地のタンパク質を還元アルキル化の後、トリプシン消化し、得られたペプチド混合物から当該レクチンに結合する糖ペプチド群を捕集し、これをそれぞれ IGOT-LC/MS 法で同定した。AFP 低産生群からはのべ 364 種、高産生群からは 517 種の糖タンパク質が同定された。これらを比較した結果、低産生群でのみ検出されたタンパク質が 83 種見出された。

IGOT-LC/MS 法により AFP 非産生株群から同定された 364 タンパク質について、候補分子を絞り込み、さらに解析を進める為の優先順位付けを行った。これらの解析には公共のデータベースの情報・糖鎖関連情報を利用し、データマイニングの手法により行った。また、培養上清から糖タンパク質の状態でレクチン捕集し、捕集画分をゲル電気泳動した。検出されたバンドのうち、主要なタンパク質 7 つを同定した。うち 1 つについては培養上清および血清からのエンリッチ方法を確立し、抗体オーバーレイレクチンアレイにより比較糖鎖プロファイリ

ングを実施した。その結果、培養上清および血清中に素材する党外候補分子は、同定の際捕集に用いたレクチンとの反応性を示すことを確認した。

(3) 肝細胞がん症例組織標本のレクチンアレイ解析：レクチンアレイ解析技術を肝がん細胞表層に超微量で存在する糖タンパク質の比較糖鎖解析に応用した。まずウイルス性肝炎を背景に持つ肝がん患者ホルマリン固定組織標本 7 例分に対し、がん部・非がん部をそれぞれ 49 カ所で解析を行ったところ、がん部でシグナルが上昇するレクチンシグナルを 10 種以上取得した。次に、非ウイルス感染肝がん患者 8 症例のがん部 20 カ所、非がん部 19 カ所を用いて同様の解析を行い、さらには結節内結節を呈するがんが出現した肝がん患者 24 症例の組織標本からがん部 46 カ所、非がん部 24 カ所を単離し、解析した結果も加え、統計解析を行ったところ、ある 1 つのレクチン（レクチン X とする）のシグナルが共通してがん部で上昇することが判明した。レクチンプローブを用いた組織標本の蛍光染色により、レクチン X へ結合する糖タンパク質は、がん細胞のある部位に局在していることが判明した。

(4) マーカータンパク質の糖鎖解析：リコンビナント M2BP は、抗体カラムを用いた親和性クロマトグラフィーで精製し、還元アルキル化の後、トリプシンで消化した。生じたペプチド混合物から親水性クロマトグラフィーで糖ペプチドを精製した後、WFA カラムに供した。このレクチンカラムに結合する糖ペプチドと結合しないものに分離し、それぞれを LC/MS で分析した。その結果、M2BP に存在する 7 カ所の糖鎖付加部位にはすべて糖鎖が結合しており、WFA 結合糖ペプチドのほとんどには、N,N-diacetyl lactosamine (LacdiNAc) 構

造をもつことが予想される組成の糖鎖が結合していた。

D. 考察

- (1) マーカー候補分子 WFA⁺-CSF1R は肝硬変の予後予測血清マーカーとなる可能性を示した。その一方、臨床的な有用性については他の指標との比較を行うなど慎重な検討を必要とする。今後は課題 2 の多施設研究での検討を通し、肝臓組織における分子の発現と病態との関連性を明らかにする必要がある。
- (2) 新規肝がんマーカーの探索：AFP 低産生細胞株群から 350 種ほどの糖タンパク質候補が検出され、バイオインフォマティクスにより正当性検証の優先順位を算出した。有望な分子から、少数の臨床検体を用いて解析を進めてきたが、さらに詳細な検討を必要とすると思われる。また並行してタンパク質レベルの解析で同定されたタンパク質についても検証を進めていく必要がある。
- (3) 肝細胞がん症例組織標本のレクチンアレイ解析：本実験は、薄切組織標本の特定領域を単離し、レクチンアレイ解析するシステムの検証として、がん部特異的なレクチンを選抜した初めての例であった。選抜されたレクチンの肝細胞がん細胞特異的な染色性はこれまで報告がない。結節内結節型肝細胞がん症例の結果から、レクチン X は分化度が低い方が染色性が強い可能性が示唆されている。今後、肝がん早期発見のためのマーカーを探索するのに有効なレクチンを見出すためには、今回のような分化度の異なるがんが共存する症例の分析数を増やして行く必要がある。
- (4) マーカータンパク質の糖鎖解析：キャリブ兰特として有効なりコンビナント M2BP には

LacdiNAc 糖鎖が付加しているものであった。これは、WFA の既報の特異性に合致するものであり、キャリブ兰特として適当であることが支持される。次いで、肝がん細胞及び肝疾患患者に由来する WFA 結合性 M2BP の糖鎖構造解析に興味もたれる。

E. 結論

- (1) 新規肝がんマーカー候補分子 WFA⁺-CSF1R は肝硬変患者の予後予測マーカーである可能性が示された。
- (2) AFP 低産生肝がん細胞株より同定した多くのマーカー候補からデータマイニングにより有望な候補分子を絞り込む事ができた。
- (3) 肝臓の背景によらず、がんの出現に伴い結合シグナルが上昇するレクチンを見いだすことに成功した。
- (4) 肝線維化マーカー分析装置のキャリブ兰特分子は LDN 含有糖鎖を持ち、WFA と反応していると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Toshima T, Shirabe K, Ikegami T, Yoshizumi T, **Kuno A, Togayachi A**, Gotoh M, **Narimatsu H**, Korenaga M, Mizokami M, Nishie A, Aishima S, Maehara Y. A novel serum marker, glycosylated Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP), for assessing liver fibrosis. J Gastroenterol. 2014 Mar; In press.
- 2) Ocho M, **Togayachi A**, Iio E, **Kaji H, Kuno A**, Sogabe M, Korenaga M, Gotoh M, Tanaka Y, Ikehara Y, Mizokami M,

- Narimatsu H.** Application of a glycoproteomics-based biomarker development method: alteration in glycan structure on colony stimulating factor 1 receptor as a possible glycobiomarker candidate for evaluation of liver cirrhosis. *J Proteome Res.* 2014 Jan; 13 (3):1428-1437.
- 3) Tan B, Matsuda A, Zhang Y, **Kuno A**, **Narimatsu H.** Multilectin-assisted fractionation for improved single-dot tissue glycome profiling in clinical glycoproteomics. *Mol Biosyst.* 2013 Dec; 10 (2):201-205.
 - 4) **Kuno A**, **Sato T**, Shimazaki H, Unno S, Saitou K, Kiyohara K, Sogabe M, Tsuruno C, Takahama Y, Ikehara Y, **Narimatsu H.** Reconstruction of a robust glycodiagnostic agent supported by multiple lectin-assisted glycan profiling. *PROTEOMICS Clin Appl.* 2013 Oct; 7 (9-10):642-647.
 - 5) **Kaji H**, Ocho M, **Togayachi A**, **Kuno A**, Sogabe M, Ohkura T, Nozaki H, Angata T, Chiba Y, Ozaki H, Hirabayashi J, Tanaka Y, Mizokami M, Ikehara Y, **Narimatsu H.** Glycoproteomic Discovery of Serological Biomarker Candidates for HCV/HBV Infection-Associated Liver Fibrosis and Hepatocellular Carcinoma. *J Proteome Res.* 2013 Jun; 12 (6):2630-2640.
 - 6) **Kuno A**, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, Hige S, Sakamoto M, Kage M, Mizokami M, **Narimatsu H.** A serum “sweet-doughnut” protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep.* 2013 Jan; 3:1065 (Article number).
 - 7) Du D, Zhu X, **Kuno A**, Matsuda A, Tsuruno C, Yu D, Zhang Y, Ikehara Y, Tanaka Y, Zhang X, **Narimatsu H.** Comparison of LecT-Hepa and FibroScan for assessment of liver fibrosis in hepatitis B virus infected patients with different ALT levels. *Clin Chim Acta.* 2012 Nov; 413 (21-22):1796-1799.
 - 8) Ito K, **Kuno A**, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, **Narimatsu H**, Mizokami M. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology.* 2012 Oct; 56 (4):1448-1456.
 - 9) **Kuno A**, Ikehara Y, Tanaka Y, Saito K, Ito K, Tsuruno C, Nagai S, Takahama Y, Mizokami M, Hirabayashi J, **Narimatsu H.** LecT-Hepa: A triplex lectin-antibody sandwich immuneassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis assisted by a bedside clinical chemistry analyzer and an automated pretreatment machine. *Clin Chim Acta.* 2011 Sep; 412 (19-20):1767-1772.
- 2. 学会発表**
- 1) **Narimatsu H.** Development Strategy of Glyco-biomarkers aiming Clinical Diagnosis: A Case of Liver Fibrosis Marker 27th International Carbohydrate Symposium (ICS27) 2014.01.15.

- Bangalore, India. 招待 (Invited Speaker).
- 2) Iio E, Tanaka Y, Watanabe T, Ikehara Y, Ocho M, **Togayachi A**, **Kuno A**, Gotoh M, Joh T, Mizokami M, **Narimatsu H**. A new liver fibrosis marker WFA⁺-H1-12 is useful for an evaluation of the prognosis in liver cirrhosis patients. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2013.11.01-05. Washington, DC.
 - 3) **Kuno A**. It's coming to the end: Development of glyco-diagnostic kit for evaluating liver fibrosis Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology (5th ACGG) 2013.10.16. Kohn Kaen, Thailand. 一般 (OR2).
 - 4) **久野 敦**. 緩行性疾患評価マーカーの開発 BioJapan 2013 2013.10.09. パシフィコ横浜. 依頼.
 - 5) **梶 裕之**. 糖鎖マーカーの探索と検証を推進するグライコプロテオミクス技術 BioJapan 2013 2013.10.09. パシフィコ横浜. 依頼.
 - 6) **Narimatsu H**. A Success in a Diagnosis Kit for Liver Fibrosis Using Multiple Novel Technologies of Glycoproteomics. - グライコプロテオミクス研究の基盤技術開発とその応用 HUPO 12th Annual World Congress (日本プロテオーム学会賞 受賞講演) 2013.09.18. パシフィコ横浜. 招待 (受賞講演) (J-HUPO Award Lecture (JHA-A-02)).
 - 7) **Kaji H**, Tomioka A, Shikanai T, **Narimatsu H**. Assignment by Duplex-LC/MS Analyses HUPO 12th Annual World Congress 2013.09.17. パシフィコ横浜. Invited (PS29-S-03).
 - 8) **Kuno A**. Development of quantitative glyco-indices for hepatic diseases HUPO 12th Annual World Congress 2013.09.17. パシフィコ横浜. 依頼 (Luncheon Seminar 10).
 - 9) **成松 久**. Development of basic tools for glycoscience and their application to cancer diagnosis 北大 リーディングセミナー 2013.07.26. 北海道大学. 依頼.
 - 10) **Kaji H**. Dissociation-independent method to assign glycopeptide signals in LC/MS data 4th AOMSC & 10th TSMS Annual Conference 2013.07.12. Taipei, Taiwan. 招待 (IL-14.1).
 - 11) **Kuno A**. Glycome mapping of mouse tissue samples by means of lectin microarray 第3回 比較発生糖鎖生物学とその医工学の応用に関する日本・オーストラリア2国間セミナー 2013.07.02. (独) 理化学研究所 和光研究所 鈴木梅太郎記念ホール. 依頼.
 - 12) **Narimatsu H**. Development of Basic Tools For Glycoscience And Their Application In Clinical Diagnosis 日本組織培養学会 第86回大会 2013.05.31. 産総研 つくばセンター 共用講堂. 招待.
 - 13) **成松 久**. 糖鎖研究の基盤開発からバイオマーカーの実用化、そして国際動向、特にアジア戦略について. 平成23年度 第11回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会. 2012.01.31. 産総研つくばセンター共用講堂.
 - 14) **成松 久**. 疾患特異的バイオマーカーとしての糖鎖 (糖鎖をつかう). KAST 教育講座: 糖鎖科学・糖鎖工学の基礎から応用 ~ 糖鎖

- を知る、見る、創る、使う～. 2012.01.25. かながわサイエンスパーク (KSP) (川崎市).
- 15) **久野 敦**, 池原 譲, 田中 靖人, 溝上 雅史, **成松 久**. 新規糖タンパク質マーカーを用いた肝線維化迅速評価系の開発. 第39回日本肝臓学会西部会. 2011.12.09. 岡山.
 - 16) **成松 久**. 糖鎖科学の基盤技術開発と、それを利用した肝線維化マーカー、および肝がん、胆管癌マーカーの開発. 日東紡セミナー. 2011.11.26. 東京.
 - 17) 伊藤 清顕, **久野 敦**, 池原 譲, 田中 靖人, **成松 久**, 溝上 雅史. EVALUATION OF NEW GLYCO-MARKER USING MULTIPLE LECTINS AS PREDICTOR OF LIVER FIBROSIS IN CHRONIC LIVER DISEASES PATIENTS. The Liver Meeting 2011. 2011.11.04. サンフランシスコ.
 - 18) **久野 敦**, 池原 譲, 田中 靖人, 伊藤 清顕, 溝上 雅史, 平林 淳, **成松 久**. LecT-Hepa: a triplex lectin-antibody sandwich automated immunoassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis. The Liver Meeting 2011. 2011.11.04. サンフランシスコ.
 - 19) **Narimatsu H.** Clinical Implementation of a Glycoprotein Biomarker for Estimating the Progression of Liver Fibrosis Dynamics. The 3rd ACGG Conference. 2011.10.28. Shanghai, China.
 - 20) **榎谷内 晶**, ほか. グライコプロテオミクス技術による疾患糖鎖バイオマーカーの探索と開発. 産総研オープンラボ. 2011.10.14. 産業技術総合研究所つくばセンター.
 - 21) **久野 敦**. 肝臓・胆管疾患マーカー開発に鑑みるレクチンアレイの実力. 産総研オープンラボ. 2011.10.14. 産業技術総合研究所つくばセンター.
 - 22) **成松 久**. 糖鎖疾患バイオマーカー探索の戦略と肝線維化マーカー開発の成功. 日本臨床検査自動化学会 第43回大会. 2011.10.08. パシフィコ横浜.
 - 23) **久野 敦**. グライコプロテオミクスを基軸とした肝線維化レベル定量評価系開発戦略. 第6回糖鎖産業技術フォーラム. 2011.10.05. パシフィコ横浜.
 - 24) **成松 久**. 肝線維化、肝臓癌糖鎖バイオマーカーの中日共同研究. 第70回日本癌学会学術総会. 2011.10.04. 名古屋国際会議場.
 - 25) 雄長 誠, **成松 久**ほか. 肝細胞がん糖鎖マーカーの探索と検証. 第70回日本癌学会学術総会. 2011.10.03-05. 名古屋国際会議場.
 - 26) 雄長 誠, **成松 久**ほか. 肝細胞がんの血清糖鎖バイオマーカーの開発. 第31回日本分子腫瘍マーカー研究会. 2011.10.02. 名古屋国際会議場.
 - 27) **Narimatsu H.** GLYCOPROTEOMICS APPROACH TOWARD DISCOVERY OF GLYCOBIOMARKERS. Human Glycomics/Proteome Initiative (HUPO 2011 10th World Congress). 2011.09.05. Geneva, Switzerland.
 - 28) **久野 敦**, 池原 譲, 田中 靖人, 溝上 雅史, **成松 久**. Clinical implementation of a fibrosis-related glycoprotein biomarker. JHUPO サテライトシンポジウム. 2011.07.30. 新潟.
 - 29) **Narimatsu H.** Development of diagnosis kit for liver fibrosis and liver cancer. The 2011 Glycobiology Gordon Research Conference. 2011.05.09. Lucca, Italy.
 - 30) **成松 久**. グライコプロテオミクス技術を駆使したバイオマーカー探索. 臨床応用を目指した最前線セミナーPart.12. 2011.04.27. 品川コクヨホール.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

1) 肝線維化マーカーに関する特許

登録：3件（日本 特許第 5031928 号
（2012.7.6）、特 5441280（2013.12.27）および
米国 8623608（2014.1.7））

他 5 か国へ出願中

糖タンパク質の測定方法、肝疾患の検査方法、
糖タンパク質量用試薬および肝疾患病態指
標糖鎖マーカー糖タンパク質。成松 久、池原
譲、久野 敦、曾我部 万紀、田中 靖人、溝上 雅
史、伊藤 清顕、松原 俊介、鶴野 親是、高浜 洋
一、香川 孝司、永井 慎也。

2) 糖鎖解析装置に関する特許

登録：1件（米国 8597576 （2013.12.03））

糖鎖アイソフォーム検出方法及び糖鎖アイソ
フォーム検出装置。成松 久 ほか。

3) 糖タンパク質検出方法・装置に関する特許

出願：1件（PCT/JP2013/071653

（2013.8.9））

糖タンパク質検出方法・装置に関する特許。

成松 久、久野 敦、池原 譲、橋本 康弘、城谷
圭朗、奈良 清光、苅谷 慶喜、星 京香。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

慢性肝疾患における非侵襲的肝線維化診断法と
新規糖鎖抗原線維化マーカー（WFA⁺-M2BP）の有用性の検討
溝上雅史 国立国際医療研究センター・肝炎・免疫研究センター長

研究要旨：近年、核酸（DNA）、タンパク質に続く第三の鎖状生命分子として、糖鎖分子が注目されている。糖鎖研究は、遺伝子機能解析やタンパク質の構造・機能解析などを中心とするポストゲノム研究に続く、ポスト・ポストゲノム研究と考えられており、広く医療分野への応用が望まれている。産業技術総合研究所の糖鎖医工学センターで開発された新規線維化マーカー（WFA⁺-M2BP）と、非侵襲的線維化診断法である侵襲的線維化診断法である ARFI（VTQ:m/s）・FibroScan（kPa）を同時に測定し、既存の血清線維化マーカー（Fib-4, IV7s collagen, ヒアルロン酸）を加え、その有用性を比較・検討した。WFA⁺-M2BP は、C 型慢性肝疾患において VTQ/Fibroscan 値と併によく相関し、VTQ/Fibroscan で F3 以上と診断される識別能と同等であった。相関係数は、WFA⁺-M2BP は FibroScan > ヒアルロン酸 > VTQ > IV7s collagen の順番であり、VTQ は IV7s collagen と良く相関した。海外でも測定診断の基準となり、本邦でも保険適応されている FibroScan と同等の診断能力であり、また迅速測定可能であることより非常に有用な線維化マーカーとして使用可能であることが推測された。

A. 研究目的

本邦には約 300 万人の B・C 型肝炎患者が存在し、年間約 3 万人が肝癌で死亡している。肝線維化の進行につれ肝硬変を経て肝癌に増加するため、肝線維化を知ることは临床上重要であるが生検に頼らざるを得ない点が临床上大きな隘路となっている。

産業技術総合研究所の糖鎖医工学センターではレクチンに着目し、活用することにより肝臓で産生される急性期蛋白である $\alpha 1$ 酸性糖タンパク質（AGP）の糖鎖構造変化が、肝線維化の進展を非侵襲的に検査しうるマーカーとなることを明らかにした。さらに、肝炎患者、肝硬変患者および健常者より AGP を簡易精製し、レクチンマイクロアレイによる比較糖鎖解析を行っ

たところ、シグナルの得られたレクチンのうち、非肝硬変群と肝硬変群で、顕著な変化を示したレクチン 6 種を見いだした。そこで、肝炎ウイルスに罹患し、肝生検により線維化の程度（staging）が病理診断された患者群を対象に分析し、統計学的に肝線維化の進展と最も相関があるレクチンをさらに選抜してきており、われわれも、共同研究することで、線維化マーカー（WFA⁺-M2BP）を報告してきた（Kuno A, et al Science Reports 2013）。今回、他の肝線維化マーカーや Fibroscan、ARFI といった非侵襲的な肝線維化診断法との比較することで、目的で以下の検討を行った。

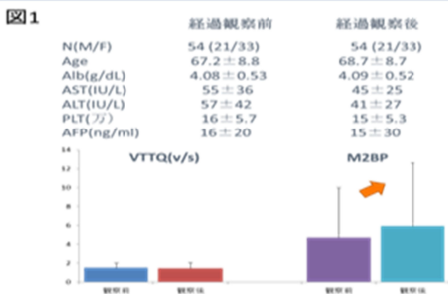
B. 研究方法

2010年4月～2013年12月までに当院で腹部超音波検査時にVTQ (Virtual Touch Tissue Quantification) 及びFibroscan 測定された5573例中、施行当日の血清保存が確認された920検体のWFA+M2BPの測定を行い、特にC型慢性肝疾患に対して、本マーカーが経過観察に有効か比較検討した。

C. 研究結果

(1) HCV: 平均16.4monthsの経過観察でVTQは変化を認めないものの、WFA+M2BPでは上昇傾向を示した。(図1) 上昇する要因として、IFN投与中が考えられた。(図2) 一方、IFN投与後は、既報の如く、SVR/TR例ではWFA+M2BPが低下し、NVR例では低下せず、これらの減少はVTQより早期に確認された。(図3) また小数例ながら、約半年の経過でWFA+M2BPが上昇する症例では、発癌症例が存在したが、その間VTQに変化を認めなかった。

経過観察例：HCV例での検討 (平均16.4Month)



経過観察例1：HCV例での検討 (平均16.4Month)

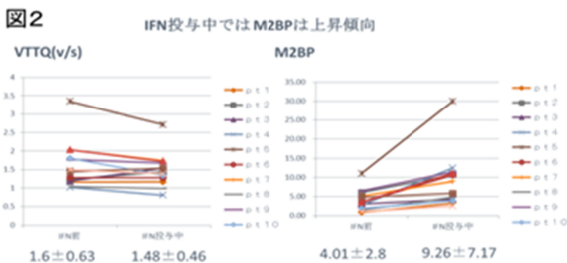
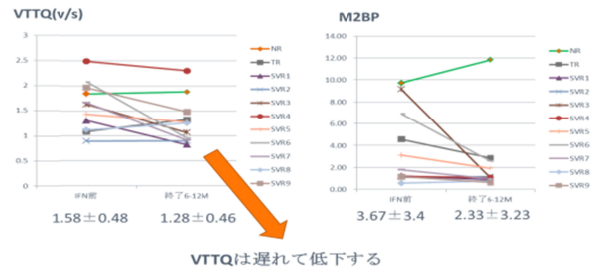


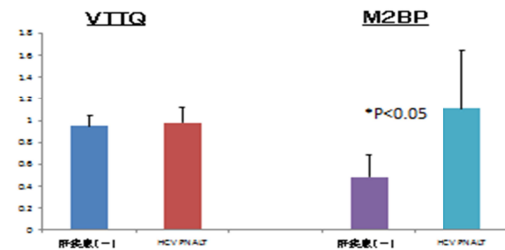
図3 IFN投与終了後、SVR例ではVTQ・M2BPの低下が確認されるNR例ではM2BPが上昇する



(2) その他の疾患:HBV やPBC ではHCVの様な相関関係が得られず、特にHBVではALT上昇に伴いWFA+M2BPが上昇し、抗ウイルス剤併用とともに著明に改善した。PBCでは投薬においてもWFA+M2BPの改善はみられなかった。

また、ALT値が正常で慢性肝疾患を認めない33症例に年齢を併せたALT正常HCV感染者(PNALT)25症例を比較検討したところ、WFA+M2BPは非慢性肝疾患群で有意に低値を示した。これにより、ALT正常でもHCV感染のより、WFA+M2BPが上昇することが明らかになり、特に0.5COI以上では非ウイルス感染者でも、肝疾患合併を考慮すべきと考えられた。(図4)

図4 非慢性肝疾患のM2BP値は、ALT正常HCV感染者(PNALT)と比較して、有意に低下する



(3) FibroScan とVTQ同時測定による検討:既報に従い、FibroScanではF0/1(6.1kPa以下)、F2(7.2～10.2kPa)、F3(10.3～14.8kPa)、F4(14.9kPa以上)、VTQではF0/1(1.29m/s未満)、F2(1.29～1.54m/s)、F3(1.55～1.91m/s)、F4(1.92m/s以上)とし、それぞれにWFA+M2BP値を代入したところ

FibroScan/VTQ 値の上昇とともに、WFA+-M2BP 値は有意に上昇し (Kruskal-Wallis test; $P<0.0001$)、特に F1 未満と F3/F4 以上の鑑別に有用であった。(図 5, 6)

図5 WFA+M2BPはFibroscanで予測される線維化stageと相関する

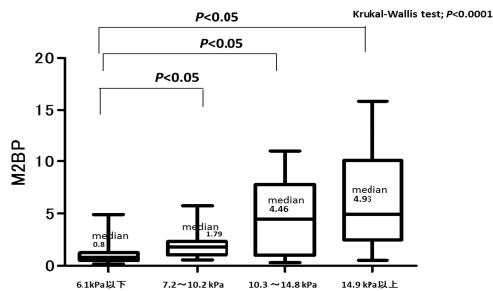
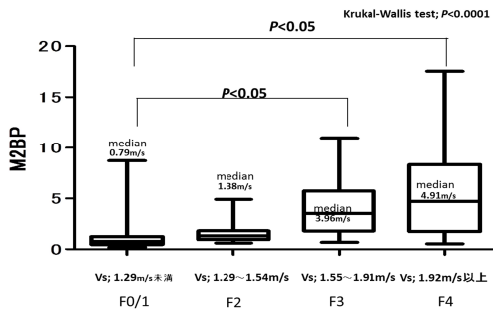


図6 WFA+M2BPはVTQで予測される線維化stageと相関する



また、それぞれの相関係数は、FibroScan やヒアルロン酸が VTQ や IV7s collagen より高値であった (表 1)

	FibroScan	VTQ	ヒアルロン酸	IV7s collagen
WFA+-M2BP	0.6866	0.5908	0.6634	0.5977
				Pearson n=126

D. 考察

本研究で見つけられた新規糖鎖抗原線維化マーカーである WFA+-M2BP は採血検査であり、「非侵襲的」とは言えないが、20ul の血清で測定可能であり、ヨーロッパ肝臓学会ですでにガイドラインに組み込まれている FibroScan と同等に、高度線維化進展例を抽出可能である。また、高価な腹部超音波装置を購入しなくても肝発癌予測ができること、FibroScan の測定に影響を与える肥満・肝萎縮症例にも測定できるこ

とも利点の一つである。

Kuno A らは (Science Reports 2013) で IFN 治療にてウイルス排除後に WFA+-M2BP の低下を報告しており、今後、IFN free の経口抗ウイルス剤 (DAAs) 投与によってウイルス排除後高率に可能となった後の follow up にも有用である。

一方で、IFN 投与中では一過性に WFA+-M2BP は上昇するため、IFN 治療中のモニタリングには不向きであること また、HBV、PBC では HCV の様な高い相関が確認されず、非 B 非 C の線維化にはその cut off を含めた更なる検討が必要である。

E. 結論

(1) WFA+-M2BP は超音波を用いた肝線維化診断法である FibroScan や VTQ よりも高度線維化進展例を分類可能である。肝硬変と診断されても上昇する症例も存在し、特に HCV 症例では、肝線維化の更なる進展や肝発癌リスク上昇を予見できる非常に有用なマーカーとなる可能性がある。

(2) 高価な腹部超音波装置を購入しなくても少量の血液で肝線維化進展例の絞り込みが可能である。

(3) HCV 排除後に WFA+-M2BP の改善が得られない症例は、線維化改善が得られていない可能性があり、DAAs 投与後のモニタリングにも有効である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Khudayberganova D, Sugiyama M, Masaki N, Nishida N, Mukaide M, Sekler D, Latipov R, Nataliya K, Dildora S, Sharapov S, Usmanova G, Raxmanov M,

- Musabaev E, **Mizokami M**. IL28B Polymorphisms and Clinical Implications for Hepatitis C Virus Infection in Uzbekistan. *PLoS One*. 2014 Mar; 9 (3):e93011.
- 2) Toshima T, Shirabe K, Ikegami T, Yoshizumi T, Kuno A, Togayachi A, Gotoh M, Narimatsu H, Korenaga M, **Mizokami M**, Nishie A, Aishima S, Maehara Y. A novel serum marker, glycosylated *Wisteria floribunda* agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP), for assessing liver fibrosis. *J Gastroenterol*. 2014 Mar; In press.
 - 3) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, **Mizokami M**. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One*. 2014 Feb; 9 (2):e86449.
 - 4) Ocho M, Togayachi A, Iio E, Kaji H, Kuno A, Sogabe M, Korenaga M, Gotoh M, Tanaka Y, Ikehara Y, **Mizokami M**, Narimatsu H. Application of a glycoproteomics-based biomarker development method: alteration in glycan structure on colony stimulating factor 1 receptor as a possible glycomarker candidate for evaluation of liver cirrhosis. *J Proteome Res*. 2014 Jan; 13 (3):1428-1437.
 - 5) Murata K, Sugiyama M, Kimura T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K, Korenaga M, Imamura M, Masaki N, **Mizokami M**. Ex vivo induction of IFN-lambda3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/Ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol*. 2014 Jan; 49 (1):126-137.
 - 6) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsushashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, **Mizokami M**. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014 Jan; 59 (1):89-97.
 - 7) Yotsuyanagi H, Ito K, Yamada N, Takahashi H, Okuse C, Yasuda K, Suzuki M, Moriya K, **Mizokami M**, Miyakawa Y, Koike K. High levels of hepatitis B virus after the onset of disease lead to chronic infection in patients with acute hepatitis B. *Clin Infect Dis*. 2013 Oct; 57 (7):935-942.
 - 8) Akkarathamrongsin S, Hacharoen P, Tangkijvanich P, Theamboonlers A, Tanaka Y, **Mizokami M**, Poovorawan Y. Molecular epidemiology and genetic

- history of hepatitis C virus subtype 3a infection in Thailand. *Intervirology*. 2013 Sep; 56 (5):284-294.
- 9) Kaji H, Ocho M, Togayachi A, Kuno A, Sogabe M, Ohkura T, Nozaki H, Angata T, Chiba Y, Ozaki H, Hirabayashi J, Tanaka Y, **Mizokami M**, Ikehara Y, Narimatsu H. Glycoproteomic Discovery of Serological Biomarker Candidates for HCV/HBV Infection-Associated Liver Fibrosis and Hepatocellular Carcinoma. *J Proteome Res*. 2013 Jun; 12 (6):2630-2640.
 - 10) Yoshio S, Kanto T, Kuroda S, Matsubara T, Higashitani K, Kakita N, Ishida H, Hiramatsu N, Nagano H, Sugiyama M, Murata K, Fukuhara T, Matsuura Y, Hayashi N, **Mizokami M**, Takehara T. Human blood dendritic cell antigen 3 (BDCA3) (+dendritic cells are a potent producer of interferon-lambda in response to hepatitis C virus. *Hepatology*. 2013 May; 57 (5):1705-1715.
 - 11) Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Tokunaga K, **Mizokami M**, Izumi N. Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 2013 Mar; 85 (3):449-458.
 - 12) Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, Hige S, Sakamoto M, Kage M, **Mizokami M**, Narimatsu H. A serum "sweet-doughnut" protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep*. 2013 Jan; 3:1065 (Article number).
 - 13) Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y, Matsuura K, Yatsushashi H, Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, **Mizokami M**. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon-alpha in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut*. 2012 Nov; 62 (9):1340-1646.
 - 14) Saito H, Ito K, Sugiyama M, Matsui T, Aoki Y, Imamura M, Murata K, Masaki N, Nomura H, Adachi H, Hige S, Enomoto N, Sakamoto N, Kurosaki M, **Mizokami M**, Watanabe S. Factors responsible for the discrepancy between IL28B polymorphism prediction and the viral response to peginterferon plus ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res*. 2012 Oct; 42 (10):958-965.
 - 15) Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, Narimatsu H, **Mizokami M**. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. 2012 Oct; 56 (4):1448-1456.
 - 16) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E,

- Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, **Mizokami M**. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*. 2012 Jun; 7 (6).
- 17) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, **Mizokami M**, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet*. 2012 Jun; 13 (47).
- 18) Miyaaki H, Ichikawa T, Yatsushashi H, Taura N, Miuma S, Usui T, Mori S, Kamihira S, Tanaka Y, **Mizokami M**, Nakao K. Suppressor of cytokine signal 3 and IL28 genetic variation predict the viral response to peginterferon and ribavirin. *Hepato Res*. 2011 Dec; 41 (12):1216-1222.
- 19) Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, **Mizokami M**. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. *PLoS One*. 2011 Oct; 6 (10):e26620.
- 20) Suzuki H, Murata K, Gotoh T, Kusano M, Okano H, Oyamada T, Yasuda Y, Imamura M, Kudo M, **Mizokami M**, Sakamoto A. Phenotype-dependent production of des-gamma-carboxy prothrombin in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*. 2011 Oct; 46 (10):1219-1229.
- 21) Nakamura I, Tanaka Y, Ochiai K, Moriyasu F, **Mizokami M**, Imawari M. Clarification of interspousal hepatitis C virus infection in acute hepatitis C patients by molecular evolutionary analyses: Consideration on sexual and non-sexual transmission between spouses. *Hepato Res*. 2011 Sep; 41 (9):838-845.
- 22) Sugiyama M, Inui A, Shin-I T, Komatsu H, Mukaide M, Masaki N, Murata K, Ito K, Nakanishi M, Fujisawa T, **Mizokami M**. Easy-to-use phylogenetic analysis system for hepatitis B virus infection. *Hepato Res*. 2011 Oct; 41 (10):936-945.
- 23) Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Saito K, Ito K, Tsuruno C, Nagai S, Takahama Y, **Mizokami M**, Hirabayashi J, Narimatsu H. LecT-Hepa: A triplex lectin-antibody sandwich immuneassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis assisted by a bedside clinical chemistry analyzer and an automated pretreatment machine. *Clin Chim Acta*. 2011 Sep; 412 (19-20):1767-1772.
- 24) Furui Y, Hoshi Y, Murata K, Ito K, Suzuki K, Uchida S, Satake M, **Mizokami M**, Tadokoro K. Prevalence of Amino acid mutation in hepatitis C virus core region among Japanese volunteer blood donors. *J Med Virol*. 2011 Nov; 83 (11):1924-1929.

- 25) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, **Mizokami M**. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet*. 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 26) Sa-Nguanmoo P, Tanaka Y, Ratanakorn P, Sugiyama M, Murakami S, Payungporn S, Sommanustweechai A, **Mizokami M**, Poovorawan Y. Cross-species transmission of gibbon and orangutan hepatitis B virus to uPA/SCID mice with human hepatocytes. *Virus Res*. 2011 Jun; 158 (1-2):209-215.
- 27) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, Hino K, Yatsushashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, **Mizokami M**. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol*. 2011 May; 49 (5):1853-1860.
- 28) Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, **Mizokami M**. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepatol Res*. 2011 Jun; 41 (6):505-511.
- 29) Kurosaki M, Tanaka Y, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Matsuura K, Sugauchi F, Enomoto N, Nishida N, Tokunaga K, **Mizokami M**, Izumi N. Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther*. 2011 May; 16:685-694.
- 30) Tatematsu K, Tanaka Y, Sugiyama M, Sudoh M, **Mizokami M**. Host sphingolipid biosynthesis is a promising therapeutic target for the inhibition of hepatitis B virus replication. *J Med Virol*. 2011 Apr; 83 (4):587-593.
- 31) Kanathezhath B, **Mizokami M**, Stanislaus S, Hounshell C, Neumayr L, Guo H, Hearst JE, Walters MC, Kuypers FA. Improved engraftment with minimal graft-versus-host disease after major histocompatibility complex-mismatched cord blood transplantation with photochemically treated donor lymphocytes. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2011 Apr; 236 (4):492-504.

2. 学会発表 (関連含む)

- 1) Iio E, Tanaka Y, Watanabe T, Ikehara Y, Ocho M, Togayachi A, Kuno A, Gotoh M,

Joh T, **Mizokami M**, Narimatsu H. A new liver fibrosis marker WFA⁺-H1-12 is useful for an evaluation of the prognosis in liver cirrhosis patients. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2013.11.01-05. Washington, DC.

- 2) 是永 匡紹、西田 奈央、**溝上 雅史**. 高齢・非線維化進展 C 型慢性肝疾患の遺伝子多型測定の有用性. 第 17 回日本肝臓学会大会. 2013.10.09-12. 東京. パネルディスカッション 8.
- 3) 久野 敦、池原 譲、田中 靖人、**溝上 雅史**、成松 久. 新規糖タンパク質マーカーを用いた肝線維化迅速評価系の開発. 第 39 回日本肝臓学会西部会. 2011.12.09. 岡山.
- 4) 伊藤 清顕、久野 敦、池原 譲、田中 靖人、成松 久、**溝上 雅史**. EVALUATION OF NEW GLYCO-MARKER USING MULTIPLE LECTINS AS PREDICTOR OF LIVER FIBROSIS IN CHRONIC LIVER DISEASES PATIENTS. The Liver Meeting 2011. 2011.11.04. サンフランシスコ.

- 5) 久野 敦、池原 譲、田中 靖人、伊藤 清顕、**溝上 雅史**、平林 淳、成松 久. LecT-Hepa: a triplex lectin-antibody sandwich automated immunoassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis. The Liver Meeting 2011. 2011.11.04. サンフランシスコ.
- 6) 久野 敦、池原 譲、田中 靖人、**溝上 雅史**、成松 久. Clinical implementation of a fibrosis-related glycoprotein biomarker. JHUPO サテライトシンポジウム. 2011.07.30. 新潟.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

肝線維化糖鎖抗原マーカー（WFA⁺-M2BP）の非侵襲的肝線維化診断法との乖離例の検討

是永匡紹 国立国際医療研究センター・肝炎・免疫研究センター・肝疾患研修室長

研究要旨：産業技術総合研究所の糖鎖医工学センターで開発された新規肝線維化マーカー（WFA⁺-M2BP）と、非侵襲的線維化診断法である ARFI（VTQ:m/s）・FibroScan（kPa）と同等の診断能力がある一方で、乖離例も存在する。WFA⁺-M2BP の今後の臨床応用を考え、乖離する症例を検索したところ C 型慢性肝疾患の女性、特に高齢者で高値になることが明らかになった。また、IFN 投与中は一過性に上昇し、徐々に低下することも確認された。一方、非ウイルス肝疾患の伴う肝硬変例では、その値は HCV 関連肝硬変よりも低く、cut off 値を新規に作成する必要性が確認されたため、非アルコール性脂肪肝疾患の線維化診断のため、各施設より組織を集め 3 人の病理医と共に組織検討会を開催した。また非ウイルス肝炎発癌に伴う新規糖鎖抗原腫瘍マーカーの開発のため、線維化を伴わない肝細胞癌組織 35 症例を集め、組織学的・血清学的に解析中である。

A. 研究目的

本邦には約 300 万人の B・C 型肝炎患者が存在し、年間約 3 万人が肝癌で死亡している。肝線維化の進行につれ肝硬変を経て肝癌に増加するため、肝線維化を知ることは临床上重要であるが生検に頼らざるを得ない点が临床上大きな隘路となっている。

われわれは、産業技術総合研究所の糖鎖医工学センターと共同研究することで、C 型慢性肝疾患における肝線維化マーカー（WFA⁺-M2BP）を報告してきた（Kuno A, et al Science Reports 2013）。更なる検討にて、FibroScan、ARFI といった非侵襲的な肝線維化測定法と同等な識別能があることも確認され、高価な超音波装置を用いることなく、肝線維化進展例を抽出できることが明らかになる一方で、乖離例が存在する。

臨床応用を勧めるうえで、どのような症例に注

意すべきかを明らかにする目的で以下の検討を行った。

B. 研究方法

2013 年 2 月～2013 年 10 月までに当院で腹部超音波検査時に FibroScan、VTQ を同時測定された 236 例の WFA⁺-M2BP の測定を行いその値別に 1 未満、3 以上に分類し FibroScan、VTQ、一部は Fib4index との乖離例を解析した。

C. 研究結果

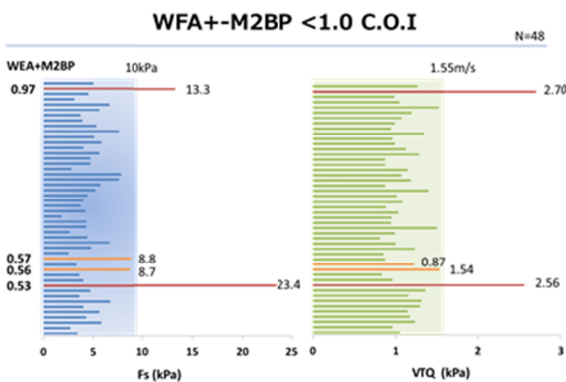
(1) Fib4 index との検討

FIB-4 index = (年齢 X AST) / (血小板数 X ALT の平方根) (3.25 以上が severe fibrosis とされる) は欧米を中心に有効であると報告される一方で、年齢と血小板が利用されており、高齢者や門脈圧亢進を伴わない血小板低下例では線維化進展と診断されやすいと考えられ

る。WFA+-M2BP<2C.O.I未滿、Fib-43.25以上と診断された8例では、VTQ, Fibroscanいずれも、高度線維化進展とは診断されず、Fib4 indexは75歳以上・血小板15万未滿では、overestimateしやすく、HCV陽性者が高齢者に多い本邦では充分な注意が必要である。(下表)

Pt	Sex	Age	AST	ALT	PLT	Fib-4	M2BP	Vs	Fibroscan
1	F	75	22	16	11.2	3.683036	0.77	1.07	7.8
2	F	84	26	15	13.6	4.14637	0.94	1.21	6.6
3	M	74	27	25	10.9	3.666055	1.10	0.89	5.1
4	F	69	48	26	16.1	4.034389	1.13	1.08	2.8
5	M	82	38	22	14.9	4.458614	1.37	1.47	6.8
6	M	87	36	33	14.2	3.839516	1.78	1.24	4.6
7	F	60	50	59	11.2	3.487203	1.80	1.26	8.8
8	F	76	37	35	14.6	3.255558	1.46	1.14	6.1

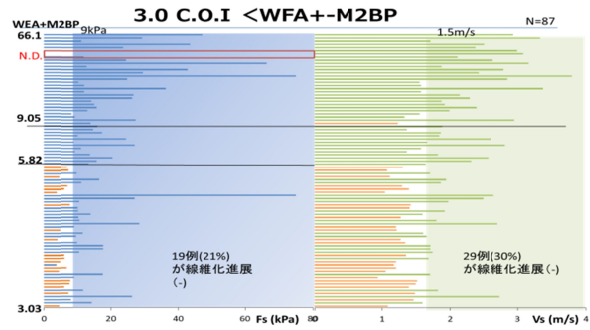
(2) WFA+-M2BP<1 C.O.Iでの検討(下図)



上記の様に2例(4%)でWFA+-M2BP低値に関わらず、FibroScan・VTQで高値を示した。(下表)

Gender	Age	M2BP	Fib4	Kpa	VTQ平均	CAP	HCC	DM
F	65	0.53	7.889723	23.4	2.56	214	有	無
M	69	0.97	1.564566	13.3	2.70	281	無	有

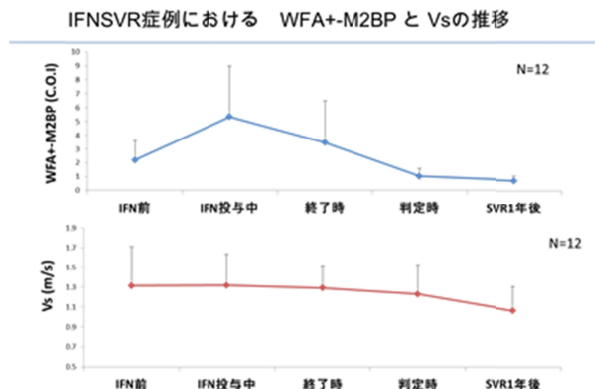
(3) WFA+-M2BP>3 C.O.Iでの検討(下図)



Fibroscanで20%、VTQで30%高度線維化進展と診断されない症例が存在した。特に肝硬変と診断されるCOI>4であって非線維化進展とされた9例は全員女性であった。(下表)

Gender	Age	M2BP	Fib4	Kpa	VTQ平均	CAP	HCC	DM
F	75	3.03	2.3134	4.6	1.08	195	無	無
F	86	3.06	5.57858	8.1	1.46	252	無	無
F	76	3.16	4.20473	7.3	1.48	227	無	無
F	42	3.26	2.84088	6	1.39	119	無	無
F	55	3.32	3.13703	7.6	1.49	185	無	無
M	51	3.48	3.09295	7.8	1.51	205	無	無
F	60	3.49	1.77428	9	0.93	257	無	無
F	77	3.6	2.80055	4.4	1.05	228	無	無
F	64	3.6	3.32839	6.8	1.2	212	無	無
M	75	3.66	2.51185	3.7	1.17	168	無	無
F	92	3.72	6.97087	4.9	1.2	180	無	無
M	64	3.78	2.82517	6	1.35	200	無	無
F	85	4.03	6.10303	4	1.27	193	無	無
F	69	4.3	5.5983	4.9	1.21	139	無	無
F	78	4.38	2.35612	9	1.2	172	無	無
F	68	4.87	4.17216	7.7	1.42	186	無	無
F	70	5.04	1.849	3.8	1.04	168	無	無
F	63	5.3	4.7121	7	1.29	230	無	無
F	85	5.72	6.57388	4.5	1.11	203	無	無
F	46	5.78	2.0612	6.9	1.3	199	無	無
		55	4.029	3.74022	6.2	1.2575	195.9	

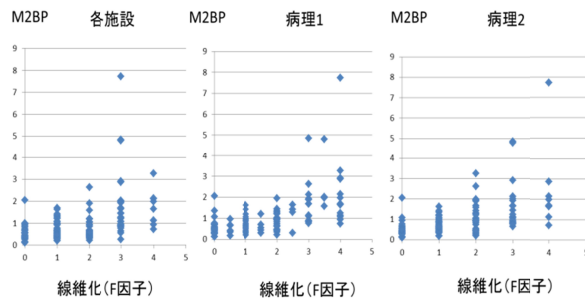
(4) IFN 投与中の WFA+-M2BP



IFN 投与は VTQ に影響を受けないも、WFA+-M2BP は、IFN 導入により一過性に上昇する。

(5) 多施設で集めた NASH 組織の再検討

多施設で NASH と診断された組織を 230 検体集め、3 人の病理に判定して頂いたところ、約 20% が NAFLD/NASH と診断できず、3 人の病理に一致率も 30% であった。



病理医の診断により、その線維化診断異なり、予後解析にも影響を与えかねないと考え、再度病理医と臨床医により解析を行い、NASH 線維化進展と WFA⁺-M2BP の解析を進めた。

D. 考察

本研究で見つけられた新規糖鎖抗原線維化マーカーである WFA⁺-M2BP は採血検査であり、「非侵襲的」とは言えないが、20ul の血清で測定可能であり、高価な腹部超音波装置を購入しなくても肝発癌予測ができること、FibroScan の測定に影響を与える肥満・肝萎縮症例にも測定できることも利点である。

本邦の C 型慢性肝疾患症例の多くは高齢者であり、今回の検討では、Fib4 index を用いての高齢者での解析には十分な注意が必要であり、WFA⁺-M2BP が 1 (COI) 未満であれば、非線維化進展と診断して良いと考えられる。一方で、同じ高齢者でも WFA⁺-M2BP が 4 (COI) 以上であっても女性では非線維化進展例が含まれ、特に 3~5COI の高齢・女性の線維化診断には、十分な検討が必要である。

一方で、HCV 以外での WFA⁺-M2BP 値についても検討が必要なため、NAFLD/NASH の検体を厳格に診断し、HCV での cut off 値より低

値であることが確認された。非ウイルス肝炎例での線維化診断・肝発癌予測には更なる新規糖鎖抗原マーカー、特に AFP/PIVKII よりも鋭敏な腫瘍マーカー開発が必要である。

E. 結論

WFA⁺-M2BP 低値であれば、高度線維化進展例は殆ど含まれないが、高齢女性の 3~5COI は overestimate する可能性があり、その診断には注意を要する。

WFA⁺-M2BP は IFN 投与中高値となり、また非 HCV 症例では低値なり、疾患別の cut off が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Toshima T, Shirabe K, Ikegami T, Yoshizumi T, Kuno A, Togayachi A, Gotoh M, Narimatsu H, **Korenaga M**, Mizokami M, Nishie A, Aishima S, Maehara Y. A novel serum marker, glycosylated Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP), for assessing liver fibrosis. *J Gastroenterol.* 2014 Mar; In press.
- 2) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, **Korenaga M**, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and

Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One*. 2014 Feb; 9 (2):e86449.

- 3) Ocho M, Togayachi A, Iio E, Kaji H, Kuno A, Sogabe M, **Korenaga M**, Gotoh M, Tanaka Y, Ikehara Y, Mizokami M, Narimatsu H. Application of a glycoproteomics-based biomarker development method: alteration in glycan structure on colony stimulating factor 1 receptor as a possible glyco-biomarker candidate for evaluation of liver cirrhosis. *J Proteome Res*. 2014 Jan; 13 (3):1428-1437.
- 4) Murata K, Sugiyama M, Kimura T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K, **Korenaga M**, Imamura M, Masaki N, Mizokami M. Ex vivo induction of IFN-lambda3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/Ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol*. 2014 Jan; 49 (1):126-137.
- 5) Korenaga K, **Korenaga M**, Teramoto F, Suzuki T, Nishina S, Sasaki K, Nakashima Y, Tomiyama Y, Yoshioka N, Hara Y, Moriya T, Hino K. Clinical usefulness of non-protein respiratory quotient measurement in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. 2013 Dec; 43 (12):1284-1294.
- 6) Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, **Korenaga M**, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M,

Narimatsu H, Mizokami M. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. 2012 Oct; 56 (4):1448-1456.

- 7) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, **Korenaga M**, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*. 2012 Jun; 7 (6).
- 8) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, **Korenaga M**, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet*. 2012 Jun; 13 (47).

2. 学会発表

- 1) 是永 匡紹、西田 奈央、溝上 雅史. 高齢・非線維化進展 C 型慢性肝疾患の遺伝子多型

測定の有用性. 第 17 回日本肝臓学会大会.
パネルディスカッション 8. 2013.10.09-12.
東京.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特許第 5070552 号. C 型慢性肝炎治療効果予測
のための検査方法及び検査用キット. 加藤 宣
之、池田 正徳、**是永 匡紹**、日野 啓輔.

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

C型慢性肝炎における WFA⁺-M2BP を用いた非侵襲的肝線維化
および発癌リスク評価に関する研究
泉 並木 武蔵野赤十字病院・副院長

研究要旨：C型慢性肝炎において肝線維化は発癌や予後と関連しているため、線維化を正確に評価することは臨床上極めて重要である。そこで本研究では WFA⁺-M2BP を用いた非侵襲的肝線維化および発癌リスク評価の検討を行った。武蔵野赤十字病院において肝生検を施行した C 型慢性肝炎患者 97 例を対象とし、肝生検時の WFA⁺-M2BP を測定し、肝生検による線維化診断と比較をおこなった。それぞれの線維化ステージにおける WFA⁺-M2BP の平均値は F1/F2/F3/F4 で 1.48/2.63/3.15/7.29 と線維化の進行にしたがって WFA⁺-M2BP が上昇する有意な相関関係があった。また、肝生検を施行した C 型慢性肝炎患者 54 例を対象とし、肝生検時の WFA⁺-M2BP による発癌リスクの検討を行い、また M2BP のその後の経時変化と発癌リスクについても検討を行った。肝生検時の WFA⁺-M2BP を用いて検討すると、肝生検による病理診断と同様に、WFA⁺-M2BP 高値の症例において発癌率が高値であった。また、WFA⁺-M2BP の経時変化では M2BP 値が経時的に上昇する症例において発癌率が高値であった。WFA⁺-M2BP は簡便に反復して測定できることから、肝生検にかわる肝線維化診断法および発癌リスクの評価法として有用であると考えられた。

研究協力者
黒崎雅之 武蔵野赤十字病院・消化器科・
部長
玉城信治 武蔵野赤十字病院・消化器科・
医師

価する新しい検査手法であり、その有用性が検討されている。そこで本研究では C 型慢性肝炎における WFA⁺-M2BP の肝線維化診断の有用性および発癌リスク評価の有用性を検討することを目的とした。

A. 研究目的

C 型慢性肝炎において肝線維化は発癌や予後と関連しているため、線維化を正確に評価することは臨床上極めて重要である。肝線維化評価の Golden standard は肝生検であるが、侵襲を伴うため、合併症を有する患者、高齢者などでは簡便に行うことができない。WFA⁺-M2BP は血液サンプルを用いて非侵襲的に肝線維化を評

B. 研究方法

(1) 肝線維化診断における有用性の検討

武蔵野赤十字病院にて 2011 年以降に肝生検を行い、同時に血液サンプルの保存された 97 例を対象とした。血液サンプルからそれぞれ WFA⁺-M2BP を測定し、肝生検による線維化診断と比較を行った。これらの症例は肝生検と同時に超音波を用いた非侵襲的肝線維化診断法として有用性が報告されている Real-time

tissue elastography (RTE) を行っている。そこで RTE から算出される肝線維化予測値である LF index と WFA⁺-M2BP の有用性を比較した。

(2) 発癌リスク診断における有用性の検討

武蔵野赤十字病院にて肝生検を行い、その後経過をおえた症例のうち、肝生検時の血清を用いて WFA⁺-M2BP の測定が可能であった症例を対象とした。肝生検時の WFA⁺-M2BP 値による累積発癌率を検討した。また、WFA⁺-M2BP の経時的な変化を測定し-M2BP の経時変化と発癌率について検討した。

C. 研究結果

(1) 97 例の線維化の内訳は F1:39 例、F2:24 例、F3:23 例、F4:11 例であった。それぞれのステージにおける WFA⁺-M2BP の平均値は F1/F2/F3/F4 でそれぞれ 1.48/2.63/3.15/7.29 と線維化の進行にしたがって WFA⁺-M2BP が上昇する有意な相関関係があった。特に F4 症例の診断に極めて有用であり、ROC 解析を行うと F4 症例診断における WFA⁺-M2BP の AUC は 0.90 と極めて高値であった。これは LF index による線維化診断よりも有用であった。WFA⁺-M2BP を用いることによって 7 割の症例を 99% の精度で肝硬変の有無を見分けることが可能であった。

(2) 54 例について肝生検時の M2BP を測定することが可能であった。肝生検による Fibrosis stage を用いて累積発癌率を検討すると F3-4 症例において F1-2 症例よりも有意に累積発癌率は高値であった。同様に肝生検時の M2BP を用いて層別化をすると-M2BP:4 以上の症例では 4 未満の症例と比べ有意に発癌率が高値であり、肝生検と同等に精度であった。同様に M2BP の経時変化について検討をすると

-M2BP 年次変化:0.3 以上の症例では 0.3 未満の症例と比較し、発癌率が高値であった。

D. 考察

WFA⁺-M2BP を測定することによって、肝線維化を正確に診断することが可能であった。肝生検は侵襲を伴い、医療費も高額となるが、WFA⁺-M2BP は血液サンプルを用いて極めて簡単に測定することが可能である。また既知の超音波を用いた肝線維化診断法と比較しても有用であることが示された。これらのことから WFA⁺-M2BP は肝生検に代わる、簡便な線維化診断法として活用できる可能性が示唆された。

また、WFA⁺-M2BP を用いた発癌リスク評価の検討においても肝生検と同等に、発癌リスクを予測する事が可能であった。また WFA⁺-M2BP は反復して測定することが可能であり、経時変化によっても発癌リスクを評価できることに関して、肝生検を超える有用性があると考えられた。

E. 結論

WFA⁺-M2BP は C 型慢性肝炎における肝線維化診断法として有用であり、また発癌リスク評価法としても有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, **Izumi N**, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N,

- Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One*. 2014 Feb; 9 (2):e86449.
- 2) Osaki Y, Ikeda K, **Izumi N**, Yamashita S, Kumada H, Hatta S, Okita K. Clinical effectiveness of bipolar radiofrequency ablation for small liver cancers. *J Gastroenterol*. 2013 Jul; 48 (7):874-883.
 - 3) Sato A, Sata M, Ikeda K, Kumada T, **Izumi N**, Asahina Y, Osaki Y, Chayama K, Kaneko S, Sakai A, Onji M, Hiasa Y, Omura T, Ozeki I, Yokosuka O, Shiina S, Itsubo M, Nishiguchi S, Hirano K, Ide T, Sakisaka S, Yamasaki T, Hidaka I, Tanaka M, Kim SR, Ichida T. Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan. *Intern Med*. 2013 Jul; 52 (24):2701-2706.
 - 4) Ikeda K, **Izumi N**, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Kumada H. Fibrosis score consisting of four serum markers successfully predicts pathological fibrotic stages of chronic hepatitis B. *Hepatol Res*. 2013 Jun; 43 (6):596-604.
 - 5) Abe T, Hashiguchi A, Yamazaki K, Ebinuma H, Saito H, Kumada H, **Izumi N**, Masaki N, Sakamoto M. Quantification of collagen and elastic fibers using whole-slide images of liver biopsy specimens. *Pathol Int*. 2013 Jun; 63 (6):305-310.
 - 6) Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, **Izumi N**, Ichida T, Kudo M, Ku Y, Sakamoto M, Nakashima O, Matsui O, Matsuyama Y. Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: A cohort study based on a Japanese nationwide survey. *J Hepatol*. 2013 Apr; 58 (4):724-729.
 - 7) Arao T, Ueshima K, Matsumoto K, Nagai T, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Haji S, Kanazawa A, Hidaka H, Iso Y, Kubota K, Shimada M, Utsunomiya T, Hirooka M, Hiasa Y, Toyoki Y, Hakamada K, Yasui K, Kumada T, Toyoda H, Sato S, Hisai H, Kuzuya T, Tsuchiya K, **Izumi N**, Arii S, Nishio K, Kudo M. FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2013 Apr; 57 (4):1407-1415.
 - 8) Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Tokunaga K, Mizokami M, **Izumi N**. Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 2013 Mar; 85 (3):449-458.
 - 9) **Izumi N**, Asahina Y, Kurosaki M, Yamada G, Kawai T, Kajiwara E, Okamura Y, Takeuchi T, Yokosuka O, Kariyama K, Toyoda J, Inao M, Tanaka E, Moriwaki H, Adachi H, Katsushima S,

- Kudo M, Takaguchi K, Hiasa Y, Chayama K, Yatsushashi H, Oketani M, Kumada H. Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFN α -2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study. *J Gastroenterol.* 2013 Mar; 48 (3):382-390.
- 10) Kudo M, Matsui O, Sakamoto M, Kitao A, Kim T, Ariizumi S, Ichikawa T, Kobayashi S, Imai Y, **Izumi N**, Fujinaga Y, Arie S. Role of Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylenetriamine Pentaacetic Acid-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in the Management of Hepatocellular Carcinoma: Consensus at the Symposium of the 48th Annual Meeting of the Liver Cancer Study Group of Japan. *Oncology.* 2013 Feb; 84 (Suppl 1):21-27.
- 11) Oze T, Hiramatsu N, Mita E, Akuta N, Sakamoto N, Nagano H, Itoh Y, Kaneko S, **Izumi N**, Nomura H, Hayashi N, Takehara T. A multicenter survey of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan. *Hepatol Res.* 2013 Jan; 43 (1):35-43.
- 12) Toyoda H, Kumada T, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, **Izumi N**. Baseline factors and early viral response (week 4) to antiviral therapy with peginterferon and ribavirin for predicting sustained virologic response in patients infected with hepatitis C virus genotype 1: A multicenter study. *J Med Virol.* 2013 Jan; 85 (1):65-70.
- 13) Tamaki N, Kurosaki M, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Asahina Y, **Izumi N**. Noninvasive estimation of fibrosis progression overtime using the FIB-4 index in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2013 Jan; 20 (1):72-76.
- 14) Ueda T, Tsuchiya K, Hashimoto S, Inoue T, Enomoto N, Inao M, Tanaka A, Kaito M, Imazeki F, Nishiguchi S, Mochida S, Yokosuka O, Yatsushashi H, **Izumi N**, Kudo M. Retreatment with Peginterferon α -2a + Ribavirin in Patients Who Failed Previous Peginterferon α -2b + Ribavirin Combination Therapy. *Dig Dis.* 2012 Dec; 30 (6):554-560.
- 15) Toyoda H, Kumada T, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, **Izumi N**. Significance of a reduction in HCV RNA levels at 4 and 12 weeks in patients infected with HCV genotype 1b for the prediction of the outcome of combination therapy with peginterferon and ribavirin. *BMC Infect Dis.* 2012 Nov; 12 (1):324.
- 16) Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, Hige S, **Izumi N**, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, Narimatsu H, Mizokami M. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology.* 2012 Oct; 56 (4):1448-1456.
- 17) Akiba T, Hora K, Imawari M, Sato C, Tanaka E, **Izumi N**, Harada T, Ando R,

- Kikuchi K, Tomo T, Hirakata H, Akizawa T. 2011 Japanese Society for Dialysis Therapy Guidelines for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection in Dialysis Patients. *Ther Apher Dial.* 2012 Aug; 16 (4):289-310.
- 18) Kudo M, Tateishi R, Yamashita T, Ikeda M, Furuse K, Ikeda K, Kokudo N, **Izumi N**, Matsui O. Current Status of Hepatocellular Carcinoma Treatment in Japan. *Clin Drug Investig.* 2012 Aug; 32 (Suppl 2):37-51.
- 19) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, **Izumi N**, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. *PLoS One.* 2012 Jun; 7 (6).
- 20) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, **Izumi N**, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet.* 2012 Jun; 13 (47)
- 21) Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, **Izumi N**. Data mining model using simple and readily available factors could identify patients at high risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2012 Mar; 56 (3):602-608.
- 22) **Izumi N**. Prediction and prevention of intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2012 Mar; 42 (3):226-232.
- 23) Asahina Y, Tsuchiya K, Muraoka M, Tanaka K, Suzuki Y, Tamaki N, Hoshioka Y, Yasui Y, Katoh T, Hosokawa T, Ueda K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Kurosaki M, Enomoto N, Nitta S, Sakamoto N, **Izumi N**. Association of gene expression involving innate immunity and genetic variation in interleukin 28B with antiviral response. *Hepatology.* 2012 Jan; 55 (1):20-29.
- 24) Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Yatsushashi H, **Izumi N**. Age and total ribavirin dose are independent predictors of relapse after interferon therapy in chronic hepatitis C revealed by data mining analysis. *Antivir Ther.* 2011 Oct; 17 (1):35-43.
- 25) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S,

- Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, **Izumi N**, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet.* 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 26) Tsuchiya K, Komuta M, Yasui Y, Tamaki N, Hosokawa T, Ueda K, Kuzuya T, Itakura J, Nakanishi H, Takahashi Y, Kurosaki M, Asahina Y, Enomoto N, Sakamoto M, **Izumi N**. Expression of Keratin 19 Is Related to High Recurrence of Hepatocellular Carcinoma after Radiofrequency Ablation. *Oncology.* 2011 Jul; 80:278-288.
- 27) Kurosaki M, Tanaka Y, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Matsuura K, Sugauchi F, Enomoto N, Nishida N, Tokunaga K, Mizokami M, **Izumi N**. Relationship between polymorphisms of

the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther.* 2011 May; 16:685-694.

2. 学会発表

- 1) 黒崎 雅之、**泉 並木**. C型肝炎個別化医療のための宿主因子・ウイルス因子 データマイニング解析に基づくC型肝炎の個別化医療. 第15回日本肝臓学会大会シンポジウム2特別発言. 2011.10.20-23. 東京.
- 2) **泉 並木**, 山田 剛太郎、熊田 博光. C型肝炎症例におけるPEG-IFN 2a少量長期投与による肝発癌抑止効果の検討：全国多施設共同研究. 第15回日本肝臓学会大会シンポジウム10. C型肝炎治療の新たな展開. S10-9. 2011.10.20-23. 東京.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

C型肝炎関連肝細胞癌患者における新規肝糖鎖マーカー（WFA⁺-M2BP）の
線維化診断精度、治療後の早期再発予測因子としての有効性の検討
今井康陽 市立池田病院・病院長

研究要旨：C型肝炎関連肝細胞癌患者において肝細胞癌切除術、ラジオ波焼灼術（RFA）前の血漿より新規肝糖鎖マーカーWFA⁺-M2BPを測定し、肝線維化進展度、肝細胞癌再発率との関連について検討した。対象はC型肝炎関連肝細胞癌患者115例（男性84例;73.0%）、年齢の中央値70.0歳（47-88歳）、病理所見はF stage（0-1/2/3/4）: 30/14/36/35例であった。WFA⁺-M2BPはF stageの進行に伴って有意な増加を認め、WFA⁺-M2BPはC型肝炎関連肝細胞癌患者において、術前非侵襲的肝線維化マーカーとして有用であると考えられた。また肝切除、RFA後の無再発生存に寄与する因子としてWFA⁺-M2BPは抽出されなかったが、腫瘍数1かつのF4症例群においてはWFA⁺-M2BP高値の症例の再発率が高い傾向にあり、組織学的線維化進展例と診断された症例の中でもWFA⁺-M2BP値によりさら肝細胞癌治療後の再発の高危険群を層別化できる可能性が示唆された。

研究協力者

澤井良之 市立池田病院・消化器内科・副部長
倉橋知英 市立池田病院・消化器内科・専攻医

A. 研究目的

肝細胞癌に対する肝切除ラジオ波焼灼術（RFA）による治療後の予後規定因子としては、現在、Stage分類、脈管侵襲、肝機能、腫瘍数などが挙げられている。

最近、肝組織の特異的糖鎖変化をとらえるMac2 binding protein（WFA⁺-M2BP）が血中で測定できることが報告された（Kuno A, et al. Scientific Reports 2013;3:1065）。

今回、C型肝炎関連肝細胞癌患者において肝細胞癌切除術、ラジオ波焼灼術前の血清より

WFA⁺-M2BPを測定し、術前線維化マーカーとしての有用性と早期再発予測因子としての有効性を明らかにする。

B. 研究方法

（2001年3月～2012年2月まで、市立池田病院及び大阪大学医学部附属病院にて肝細胞癌に対し肝切除術あるいはラジオ波焼灼療法にて治療されたC型肝炎関連肝細胞癌患者115例について、術前採取した凍結血漿検体中のWFA⁺-M2BPを測定した。肝線維化の診断には手術検体、肝生検検体を用い、背景肝の組織学的所見より新犬山分類（F0-4）に従って評価した。

WFA⁺-M2BPの線維化マーカーとしての有用性について型コラーゲン7S、ヒアルロン酸、およびFIB-4と比較検討した。

WFA⁺-M2BPの肝早期再発予測因子としての有

効性を検討するため、Cox 比例ハザードモデルによって多変量解析を行った。

(倫理面への配慮)

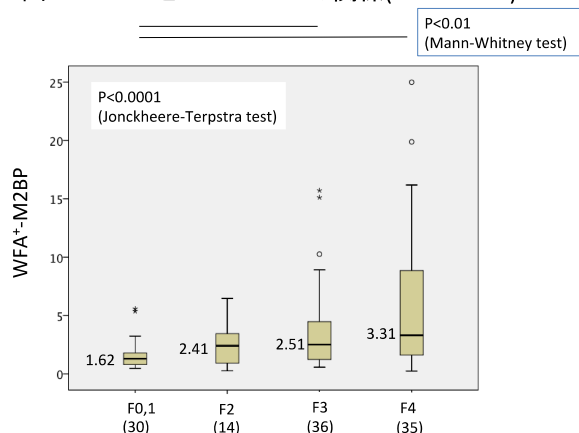
当研究は凍結保存検体(血液)、病理組織診断データをを用いた臨床研究であり、市立池田病院、大阪大学医学部附属病院の臨床研究に関する倫理委員会の承認下に施行している。また、検体の採取・使用に関しては全例で患者本人の同意を確認している。

C. 研究結果

対象は C 型肝炎関連肝細胞癌患者 115 例(男性 84 例;73.0%)、年齢の中央値 70.0 歳(47-88 歳)、病理所見は F stage (0-1/2/3/4): 30/14/36/35 例であった。

病理所見を gold standard とし、F stage ごとの WFA⁺-M2BP 値を検討したところ、F stage の進行に伴って WFA⁺-M2BP 値の増加を認めた (P<0.0001; Jonckheere-Terpstra test)。また、F0-1, F3 群間、F0-1, F4 群間にも有意差を認めた (Bonferroni 法にて補正した Mann-Whitney test)。 (図 1)

図 1. F scoreとWFA⁺-M2BPの関係(HCV n=115)



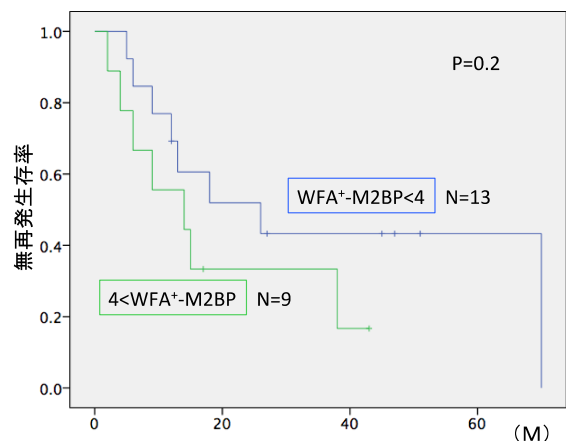
F ≥ 2 予測における AUROC を検討すると、型コラーゲン 7S、ヒアルロン酸、FIB-4、WFA⁺-M2BP の AUROC はそれぞれ 0.74, 0.70, 0.67, 0.70、F ≥ 3 予測では 0.72, 0.64, 0.67, 0.67、F ≥ 4 予測では 0.68, 0.69, 0.62, 0.69 で

あった。今回の検討では肝線維化ステージ診断能は他の血清マーカーと同等であった。

C 型肝炎関連肝細胞癌患者 115 例中 57 例(49.7%) に肝細胞癌再発がみられた。

Kaplan-Meier 法にて検討したところ、累積無再発生存率は 3 年で 46.3%、5 年で 34.6%であった。性、年齢、Child-pugh grade、線維化、腫瘍数、Stage 分類、最大腫瘍径、分化度、AFP、PIVKA-II、WFA⁺-M2BP について Cox 比例ハザードモデルによって多変量解析を行ったところ、無再発生存に寄与する因子としては腫瘍数のみが抽出された (ハザード比: 1.73, 95% CI:1.19-2.49, p<0.0005)。そこで、腫瘍数 1 かつ F4 の症例 22 例について検討すると、有意差は認められなかったが WFA⁺-M2BP 値 4 以上の症例 (n=9) において 4 以下症例 (n=13) に比し、無再発生存率が低い傾向が見られた。(p=0.2、図 2)

図 2. 無再発生存率(HCV, 腫瘍数1, F4; n=22)



D. 考察

血中 WFA⁺-M2BP は F stage の進行に伴って有意な増加を認めた。

肝切除、RFA 後の無再発生存に寄与する因子として、血中 WFA⁺-M2BP は抽出されなかった。しかし腫瘍数 1 かつ F4 の症例群においては WFA⁺-M2BP 高値の症例の再発率が高い傾向にあった。組織学的線維化進展例と診断された症

例の中でも WFA⁺-M2BP 値によりさら肝細胞癌治療後の再発の高危険群を層別化できる可能性が示唆された。

E. 結論

血中 WFA⁺-M2BP は C 型肝炎関連肝細胞癌患者において、術前非侵襲的肝線維化マーカーとして有用である。線維化進展例においては、肝細胞癌治療後の再発を予測できるマーカーである可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fukuda K, **Imai Y**, Hiramatsu N, Irishio K, Igura T, Sawai Y, Kogita S, Makino Y, Mizumoto R, Matsumoto Y, Nakahara M, Zushi S, Kajiwara N, Oze T, Kawata S, Hayashi N, Takehara T. Renal impairment during the treatment of telaprevir with peginterferon and ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* 2014 Jan; In press.
- 2) Inoue T, Hyodo T, Murakami T, Takayama Y, Nishie A, Higaki A, Korenaga K, Sakamoto A, Osaki Y, Aikata H, Chayama K, Suda T, Takano T, Miyoshi K, Koda M, Numata K, Tanaka H, Iijima H, Ochi H, Hirooka M, **Imai Y**, Kudo M. Hypovascular Hepatic Nodules Showing Hypointense on the Hepatobiliary-Phase Image of Gd-EOB-DTPA-Enhanced MRI to Develop a Hypervascular Hepatocellular Carcinoma: A Nationwide Retrospective Study on Their Natural Course and Risk Factors. *Dig Dis.* 2013 Nov; 31 (5-6):472-479.
- 3) Sasaki M, Kondo F, Sawai Y, **Imai Y**, Kadowaki S, Sano K, Fukusato T, Matsui O, Nakanuma Y. Serum amyloid A-positive hepatocellular neoplasms in the resected livers from 3 patients with alcoholic cirrhosis. *Histol Histopathol.* 2013 Nov; 28 (11):1499-1505.
- 4) Makino Y, **Imai Y**, Igura T, Kogita S, Sawai Y, Fukuda K, Hori M, Kudo M, Murakami T. Usefulness of the Extracted-Overlay Function in CT/MR-Ultrasonography Fusion Imaging for Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinoma. *Dig Dis.* 2013 Nov; 31 (5-6):485-489.
- 5) Makino Y, **Imai Y**, Igura T, Hori M, Fukuda K, Sawai Y, Kogita S, Ohama H, Matsumoto Y, Nakahara M, Zushi S, Kurokawa M, Isotani K, Takamura M, Fujita N, Murakami T. Utility of computed tomography fusion imaging for the evaluation of the ablative margin of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma and the correlation to local tumor progression. *Hepatol Res.* 2013 Sep; 43 (9):950-958.
- 6) Ohama H, **Imai Y**, Nakashima O, Kogita S, Takamura M, Hori M, Seki Y, Sawai Y, Igura T, Fukuda K, Makino Y, Morimoto O, Ohsawa M, Sakamoto M, Murakami T. Images of Sonazoid-enhanced ultrasonography in multistep hepatocarcinogenesis: comparison with Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI. *J Gastroenterol.* 2013 Aug; In press.
- 7) Takemura T, Yoshida Y, Kiso S, Kizu T, Furuta K, Ezaki H, Hamano M, Egawa M, Chatani N, Kamada Y, **Imai Y**,

- Higashiyama S, Iwamoto R, Mekada E, Takehara T. Conditional loss of heparin-binding EGF-like growth factor results in enhanced liver fibrosis after bile duct ligation in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Jul; 437 (2):185-191.
- 8) Higashitani K, Kanto T, Kuroda S, Yoshio S, Matsubara T, Kakita N, Oze T, Miyazaki M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Mita E, **Imai Y**, Kasahara A, Okuno A, Takikawa O, Hayashi N, Takehara T. Association of enhanced activity of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells with the induction of regulatory T cells in chronic hepatitis C infection. *J Gastroenterol.* 2013 May; 48 (5):660-670.
- 9) Harada N, Hiramatsu N, Oze T, Yamada R, Kurokawa M, Miyazaki M, Yakushijin T, Miyagi T, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, **Imai Y**, Inoue A, Hayashi N, Takehara T. Incidence of hepatocellular carcinoma in HCV-infected patients with normal alanine aminotransferase levels categorized by Japanese treatment guidelines. *J Gastroenterol.* 2013 Apr; 48 (4):535-543.
- 10) Hyodo T, Murakami T, **Imai Y**, Okada M, Hori M, Kagawa Y, Kogita S, Kumano S, Kudo M, Mochizuki T. Hypovascular Nodules in Patients with Chronic Liver Disease: Risk Factors for Development of Hypervascular Hepatocellular Carcinoma. *Radiology.* 2013 Feb; 266 (2):480-490.
- 11) Kudo M, Matsui O, Sakamoto M, Kitao A, Kim T, Ariizumi S, Ichikawa T, Kobayashi S, **Imai Y**, Izumi N, Fujinaga Y, Arii S. Role of Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylenetriamine Pentaacetic Acid-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in the Management of Hepatocellular Carcinoma: Consensus at the Symposium of the 48th Annual Meeting of the Liver Cancer Study Group of Japan. *Oncology.* 2013 Feb; 84 (Suppl 1):21-27.
- 12) Makino Y, **Imai Y**, Ohama H, Igura T, Kogita S, Sawai Y, Fukuda K, Takamura M, Ohashi H, Murakami T. Ultrasonography Fusion Imaging System Increases the Chance of Radiofrequency Ablation for Hepatocellular Carcinoma with Poor Conspicuity on Conventional Ultrasonography. *Oncology.* 2013 Feb; 84 (suppl 1):44-50.
- 13) Makino Y, **Imai Y**, Igura T, Ohama H, Kogita S, Sawai Y, Fukuda K, Ohashi H, Murakami T. Usefulness of the Multimodality Fusion Imaging for the Diagnosis and Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Dig Dis.* 2012 Dec; 30 (6):580-587.
- 14) Katsube T, Okada M, Kumano S, Imaoka I, Kagawa Y, Hori M, Ishii K, Tanigawa N, **Imai Y**, Kudo M, Murakami T. Estimation of liver function using T2* mapping on gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic acid enhanced magnetic resonance imaging. *Eur J Radiol.* 2012 Jul; 81 (7):1460-1464.
- 15) Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S,

- Imai Y**, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F, Okanou T. Genetic Polymorphisms of the Human PNPLA3 Gene Are Strongly Associated with Severity of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Japanese. *PLoS One*. 2012 Jun; 7 (6):e38322.
- 16) Fukuda K, Kogita S, Tsuchimoto Y, Sawai Y, Igura T, Ohama H, Makino Y, Matsumoto Y, Nakahara M, Zushi S, **Imai Y**. Overlap syndrome of autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis complicated with hepatocellular carcinoma. *Clin J Gastroenterol*. 2012 Jun; 5 (3):183-188.
- 17) Kurokawa M, Hiramatsu N, Oze T, Yakushijin T, Miyazaki M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Iio S, Doi Y, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Mochizuki K, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Katayama K, Yoshihara H, **Imai Y**, Hayashi E, Hayashi N, Takehara T. Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol*. 2012 May; 47 (5):577-585.
- 18) Onishi H, Kim T, **Imai Y**, Hori M, Nagano H, Nakaya Y, Tsuboyama T, Nakamoto A, Tatsumi M, Kumano S, Okada M, Takamura M, Wakasa K, Tomiyama N, Murakami T. Hypervascular hepatocellular carcinomas: detection with gadoxetate disodium-enhanced MR imaging and multiphasic multidetector CT. *Eur Radiol*. 2012 Apr; 22 (4):845-854.
- 19) Oze T, Hiramatsu N, Song C, Yakushijin T, Iio S, Doi Y, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Hijioka T, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, **Imai Y**, Hayashi E, Kato M, Miyazaki M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Hayashi N, Takehara T. Reducing Peg-IFN doses causes later virologic response or no response in HCV genotype 1 patients treated with Peg-IFN alfa-2b plus ribavirin. *J Gastroenterol*. 2012 Mar; 47 (3):334-342.
- 20) Murakami T, **Imai Y**, Okada M, Hyodo T, Lee WJ, Kim MJ, Kim T, Choi B.I. Ultrasonography, Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging of Hepatocellular Carcinoma: Toward Improved Treatment Decisions. *Oncology*. 2011 Dec; 81 (Suppl 1):86-99.
- 21) Hiramatsu N, Inoue Y, Oze T, Kurashige N, Yakushijin T, Mochizuki K, Miyagi T, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, **Imai Y**, Hayashi N. Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for hepatitis C patients with normal ALT levels: a matched case-control study. *J Gastroenterol*. 2011 Nov; 46 (11):1335-1343.
- 22) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Fukui H, Hijioka T, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, **Imai Y**, Hayashi E, Kato M, Hosui A, Miyagi T, Ishida H, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A,

- Takehara T, Hayashi N. Efficacy of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan. *J Gastroenterol.* 2011 Aug; 46 (8):1031-1037.
- 23) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Imanaka K, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Nagase T, Inui Y, Hijioka T, Tamura S, Yoshihara H, Hayashi E, **Imai Y**, Kato M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N. The efficacy of extended treatment with pegylated interferon plus ribavirin in patients with HCV genotype 1 and slow virologic response in Japan. *J Gastroenterol.* 2011 Jul; 46 (7):944-952.
- 24) Makino Y, **Imai Y**, Fukuda K, Seki Y, Kogita S, Sawai Y, Igura T, Kurokawa M, Takamura M. Sonazoid-enhanced ultrasonography for the diagnosis of an intrapancreatic accessory spleen: a case report. *J Clin Ultrasound.* 2011 Jul; 39 (6):344-347.
- 25) Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arai S, **Imai Y**, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, Kawata S, Uto H, Takami S, Sumida Y, Takamura T, Kawanaka M, Okanoue T; Japan NASH Study Group, Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. Characteristics of Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis Who Develop Hepatocellular Carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011 May; 9 (5):428-433.
- 26) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Fukui H, Inui Y, Hijioka T, Inada M, Kaytayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, **Imai Y**, Kato M, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N. Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy. *J Hepatol.* 2011 Apr; 54 (4):604-611.

2. 学会発表

- 1) 倉橋 知英、井倉 技、**今井 康陽**、福田 和人、澤井 良之、小来田 幸世、牧野 祐紀、水本 壘、大西 孝典、卜部 彩子、八木 麻衣、松本 康史、中原 征則、厨子 慎一郎、黒川 正典、関 康. アオナゾイソ造影エコーによる肝細胞癌に対する分子標的治療薬の早期治療効果予測に関する検討. 第17回日本肝臓学会大会. 2013.10.09-12. 東京.
- 2) 澤井 良之、**今井 康陽**、卜部 彩子、八木 麻衣、大西 孝典、倉橋 知英、牧野 祐紀、小来田 幸世、井倉 技、福田 和人、梶原 信之、入潮 佳子、黒川 正典、小瀬 嗣子、平松 直紀、竹原 徹郎. C型慢性肝炎に対する Peg-IFN 2b/Ribavirin/Telaprevir 併用療法における腎障害および高尿酸血症に関する検討. 第49回日本肝臓学会総会. P-194. 2013.06.07. 東京.
- 3) 菅 理恵、**今井 康陽**、福田 和人、井倉 技、澤井 良之、小来田 幸世、卜部 彩子、牧野 祐紀、八木 麻衣、倉橋 知英、大西 孝典、水本 壘、松本 康史、中原 征則、厨子 慎一郎、黒川 正典、片山 和宏. C型慢性肝炎に対する Peg-IFN 2b/Ribavirin/Telaprevir 併用療法の早期治

- 療効果、副作用に関する検討. 第 49 回日本肝臓学会総会. P-208. 2013.06.07. 東京.
- 4) 牧野 祐紀、井倉 技、**今井 康陽**. Volume Navigation System における enhanced-overlay 機能を用いた RFA 治療支援と効果判定の試み. 第 49 回日本肝臓学会総会. パネルディスカッション 2「肝画像診断の進歩と pitfall」. 2013.06.06-07. 東京.
 - 5) 澤井 良之、**今井 康陽**、福田 和人、井倉 技、小来田 幸世、牧野 祐紀、黒川 正典、高村 学、大橋 寛嗣、中島 収、佐々木 素子、中沼 安二、北尾 梓、松井 修. アルコール性肝障害を基礎に発症した FNH-like nodule と肝細胞癌の画像、病理学的所見の比較検討. 第 49 回日本肝臓学会総会. ワークショップ 2「良性肝細胞性結節の諸問題：肝細胞線種、限局性結節性過形成を含む過形成結節の基礎と臨床」. 2013.06.06-07. 東京.
 - 6) 井倉 技、塩見 浩也、福田 和人、澤井 良之、小来田 幸世、水本 壘、牧野 祐紀、大西 孝典、倉橋 知英、八木 麻衣、呉 隆進、中村 仁信、**今井 康陽**. 肝細胞癌に対する定位放射線療法における EOB-MRI を用いた肝小体積耐容線量に関する検討. 第 49 回日本肝臓学会総会. 2013.06.06-07. 東京.
 - 7) 福田 和人、澤井 良之、小来田 幸世、牧野 祐紀、岡田 拓也、津川 真美子、井倉 技、**今井 康陽**. 糖尿病患者の NAFLD/NASH 発症・進行における内臓脂肪の関与. 第 49 回日本肝臓学会総会. 2013.06.06-07. 東京.
 - 8) 入潮 佳子、**今井 康陽**、福田 和人、井倉 技、澤井 良之、小来田 幸世、卜部 彩子、牧野 祐紀、八木 麻衣、倉橋 知英、大西 孝典、水本 壘、松本 康史、中原 征則、厨子 慎一郎、黒川 正典、小瀬 嗣子、平松 直紀、竹原 徹郎. Peg-IFN 2b/Ribavirin/Telaprevir 併用療法における貧血に關与する因子の検討. 第 49 回日本肝臓学会総会. 2013.06.06. 東京.
 - 9) 福田 和人、関 康、一樋 政宏、比嘉 裕次、小来田 幸世、澤井 良之、井倉 技、**今井 康陽**. 超音波検査にて診断・経過観察した下行結腸腹膜垂炎の一例. 日本超音波医学会第 86 回学術集会. 2013.05.24. 大阪.
 - 10) 福田 和人、関 康、一樋 政宏、比嘉 裕次、小来田 幸世、澤井 良之、井倉 技、**今井 康陽**. NAFLD/NASH における腹膜前脂肪/皮下脂肪比評価の意義. 日本超音波医学会第 86 回学術集会. 2013.05.24. 大阪.
 - 11) 小来田 幸世、関 康、牧野 祐紀、澤井 良之、井倉 技、福田 和人、森本 修邦、柴田 邦隆、**今井 康陽**. 肝細胞癌における超音波カテゴリー分類を用いた判定についての検討. 日本超音波医学会第 86 回学術集会. 2013.05.24. 大阪.
 - 12) 関 康、小来田 幸世、澤井 良之、井倉 技、比嘉 裕次、一樋 政宏、宇戸 朋之、**今井 康陽**. 胆嚢病変における超音波カテゴリー分類の有用性についての検討. 日本超音波医学会第 86 回学術集会. 2013.05.24. 大阪.
 - 13) 澤井 良之、**今井 康陽**、福田 和人、井倉 技、小来田 幸世、牧野 祐紀、卜部 彩子、倉橋 知英、大西 孝典、八木 麻衣、水本 壘、松本 康史、中原 征則、厨子 慎一郎、黒川 正典、梶原 信之、平松 直樹、竹原 徹郎. C 型慢性肝炎に対する Peg-IFN 2b/Ribavirin/Telaprevir 併用療法における早期腎障害に関する検討. 第 99 回日本消化器病学会総会. PL-040. 2013.03.22. 鹿児島.
 - 14) 卜部 彩子、**今井 康陽**、福田 和人、井倉 技、澤井 良之、小来田 幸世、厨子 慎一郎、中原 征則、松本 康史、水本 壘、大西 孝典、牧野 祐紀、倉橋 知英、八木 麻衣、入潮 佳子、藤井 真由子、菅 理恵、黒川 正典. C

型慢性肝炎に対する Peg-IFN

2b/Ribavirin/Telaprevir 併用療法の早期治療効果に関する検討. 第99回日本消化器病学会総会. P-347. 2013.03.22. 鹿児島.

- 15) 牧野 祐紀、井倉 技、**今井 康陽**. CTおよびEOB-MRIのFusion ImagingによるRFA治療効果判定. 第99回日本消化器病学会総会. シンポジウム2「肝画像診断の最前線」. 2013.03.21-23. 鹿児島.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

肝線維化における新規血清マーカーとしての糖鎖 (WFA⁺-M2BP) の有用性の検討

調 憲 九州大学大学院・医学研究院・消化器・総合外科・准教授

研究要旨：慢性肝疾患の問題点として、経時的に肝線維化、肝硬変へと進展し、肝機能が低下することが挙げられる。また、肝硬変は肝癌発症の大きな成因の一つでもある。現在、肝線維化の状態を診断するためには侵襲的な検査である、肝生検が必須となっている。非侵襲的な検査法として、VTTQ や fibroscan などの検討がなされているが検査実施者の技術に依存することもあり確立された検査方法ではない。近年、肝線維化の糖鎖マーカーとして新規レクチンアレイ法による画期的な線維化マーカーとして *Wisteria floribunda* agglutinin-positive human Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP) が同定された。WFA⁺-M2BP と肝線維化の相関が解明されれば、検査実施者の技術によらない血液検査からのみで肝線維化の状態を把握することが可能となる。上記糖鎖の発現と肝線維化の相関解析には、肝炎/肝硬変/肝癌症例における肝切除症例/肝移植症例における術中・術前の血液サンプルを用いて、肝線維化マーカーとしての有用性を検討するとともに、肝切除術後の腹水発生状況との関連を検討する予定である。

研究協力者

前原喜彦 九州大学大学院・消化器・総合外科・教授

戸島剛男 九州大学大学院・消化器・総合外科・医師（共同研究員）

吉屋匠平 九州大学大学院・消化器・総合外科・大学院生

A. 研究目的

核酸、蛋白質に次ぐ「第3の生命鎖」として注目される糖鎖の一つである、*Wisteria floribunda* agglutinin-positive human Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP) の血清中濃度と肝線維化の相関を解析し、肝線維化の新規マーカーとして確立することを目的として研究を行う。

B. 研究方法

本研究において、上記糖鎖の発現と肝線維化の相関解析には、肝炎/肝硬変、肝癌症例における切除肝、肝移植症例におけるレシピエント摘出肝および術中ドナー肝生検および術中の血液サンプル（すでに検査後の余剰分）を用いて、肝線維化マーカーとしての有用性と肝切除術後のアウトカムとして術後腹水の発生状況との関連を検討する予定である。

対象として、2000年1月1日から2013年12月31日までに九州大学病院で肝切除・肝移植施行した症例のうち、術前に非侵襲的肝線維化測定方法であるVTTQ値と血液学的線維化マーカー（血清ヒアルロン酸値、血清コラーゲン値、血清APRI値）を測定し得た240症例において、検査施行後の余剰血液サンプルを対象とする。解析方法としては、これら線維化マーカーが測

定済みである 240 症例の対象患者において、すでに採取済みである余剰血液サンプルを用いて、肝線維化マーカーとして同定された WFA⁺-M2BP の測定を行い、WFA⁺-M2BP 値と線維化 (F0-4) の相関を解析、同時に既に測定済みである VTTQ 値や血液学的線維化マーカー (血清ヒアルロン酸値、血清コラーゲン値、血清 APRI 値)、術後の腹水発生状況との相関に関して後ろ向きに統計学的に解析する。

C. 研究結果

血清 WFA⁺-M2BP 値は、肝線維化 (カットオフ、F0:1.62, F1:1.82, F2:3.02, F3:3.32, F4:3.67) の進行に伴い、有意に増加した。ROC 曲線を用いた解析では、肝線維化を診断する WFA⁺-M2BP 値による AUROC 値は 0.812 であり、VTTQ 値を用いた AUROC 値 0.814 に匹敵するとともに、LMR index 0.766, APRI 0.694, 血清ヒアルロン酸値 0.683, 血清 4 型コラーゲン値 0.625 よりも有意に優れた診断能を認めていた。

D. 健康危険情報 (予期される利益と不利益)

本研究は、上述の通り健康被害が発生する介入研究ではない。临床上必要に応じて既に採取された血液のうち、すでに検査施行後の余剰血液サンプルを用いた臨床研究であり、新たなサンプル採取などの不利益は生じない。その他の線維化マーカー (VTTQ 値：腹部エコーと同等、血清ヒアルロン酸値・血清コラーゲン値・血清 APRI 値) や肝切除術後の腹水発生状況 (肝細胞癌の肝切除症例 60 症例、临床上既に測定済み) に関しては、临床上通常の術前検査として既に測定済みであるので、新たな医療費など発生することはなく、不利益は生じない。被験者が得られる利益としては、余剰血液サンプルを用いた WFA⁺-M2BP 値を測定することで、肝線維化の予測がより正確となり、手術に

際しての術式決定・術後管理における投薬治療、または肝炎に対する投薬治療の参考となり、肝切除術後もよりよい治療が行えるという利益が生まれると考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Toshima T, **Shirabe K**, Ikegami T, Yoshizumi T, Kuno A, Togayachi A, Gotoh M, Narimatsu H, Korenaga M, Mizokami M, Nishie A, Aishima S, Maehara Y. A novel serum marker, glycosylated Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP), for assessing liver fibrosis. *J Gastroenterol.* 2014 Mar; In press.
- 2) Motomura T, Koga E, Taketomi A, Fukuhara T, Mano Y, Muto J, Konishi H, Toshima T, Uchiyama H, Yoshizumi T, **Shirabe K**, Maehara Y. Efficacy of splenectomy in preventing anemia in patients with recurrent hepatitis C following liver transplantation is not dependent on inosine triphosphate pyrophosphatase genotype. *Hepatol Res.* 2012 Mar; 42 (3):288-295.
- 3) Uchiyama H, Mano Y, Taketomi A, Soejima Y, Yoshizumi T, Ikegami T, **Shirabe K**, Maehara Y. Kinetics of anti-blood type isoagglutinin titers and B lymphocytes in ABO-incompatible living donor liver transplantation with rituximab and plasma exchange. *Transplantation.* 2011 Nov; 92 (10):1134-1139.
- 4) **Shirabe K**, Takeishi K, Taketomi A, Uchiyama H, Kayashima H, Maehara Y. Improvement of long-term outcomes in

hepatitis C virus antibody-positive patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy in the modern era.

World J Surg. 2011 May; 35 (5):1072-1084.

- 5) Toshima T, **Shirabe K**, Takeishi K, Motomura T, Mano Y, Uchiyama H, Yoshizumi T, Soejima Y, Taketomi A, Maehara Y. New method for assessing liver fibrosis based on acoustic radiation force impulse: a special reference to the difference between right and left liver. J Gastroenterol. 2011 May; 46 (5):705-711.

2. 学会発表

なし

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

血清 WFA⁺-M2BP を用いた肝細胞癌患者における肝線維化および術後予後予測
武富紹信 北海道大学大学院・医学研究科・消化器外科学分野 I・教授

研究要旨：肝細胞癌患者においても血清 WFA⁺-M2BP は切除検体における肝線維化の重症度に従った上昇を示し、肝線維化マーカーとしての有用性が示唆された。

血清 WFA⁺-M2BP は組織学的肝線維性変化のみならず、肝機能障害による影響も受けており、肝線維化の進行を総合的に反映している可能性が示唆された。血清 WFA⁺-M2BP は HCV 感染により有意に上昇するが、陰性群および陽性群それぞれにおいて肝線維化の重症度に伴う上昇傾向を示し、肝線維化マーカーとしての機能が期待されたため、両群間での COI 値の調整を行ったところ、群間差はほぼ解消され、組織学的肝線維化の予測診断能も両群で同等となった。組織学的肝硬変は HCC 患者の術後全生存に対する有意な独立危険因子であり、その診断マーカーである血清 WFA⁺-M2BP も同様に独立危険因子であった。

A. 研究目的

新規肝線維化マーカーである血清 WFA⁺-M2BP の肝臓外科領域への臨床応用のため、肝細胞癌患者における診断能を評価し、臨床的な診断基準を構築し、その有用性を示すこと。

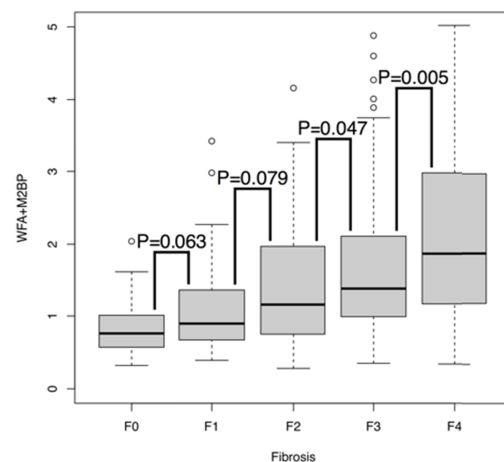
B. 研究方法

当研究では、2001 年 5 月から 2012 年 2 月までに当科で初回肝切除術を施行した 376 例の肝細胞癌患者を対象とした。全例で術前採取された凍結血清における WFA⁺-M2BP レベルを FastLec-Hepa 法により測定した。また、性別、年齢、HBV 感染、HCV 感染、ICG-R15、PT、血小板数、アルブミン、ALT、総ビリルビン、AFP、AFP-L3、PIVKA II、腫瘍数、最大腫瘍径、リンパ節転移、血管侵襲、腫瘍分化度、線維化ステージおよび術式の 20 項目の臨床病理学的因子と術後予後に関する情報を収集した。これらの情報をレトロスペクティブに解析した。

C. 研究結果

(1) 血清 WFA⁺-M2BP の肝線維化の重症度に伴う上昇：

対象症例において血清 WFA⁺-M2BP の cutoff index 値 (COI) は 0.28 から 23.55 までの値をとり、F0、F1、F2、F3 および F4 症例における中央値は、0.76、0.90、1.17、1.39 および 1.87 と有意な上昇傾向を示した。

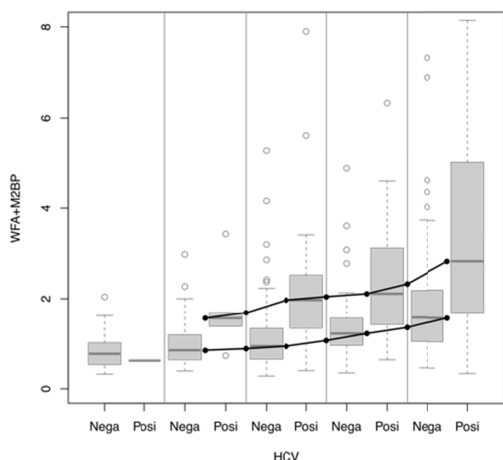


(2) 血清 WFA⁺-M2BP レベルに影響を与える臨床病理学的因子の検討：

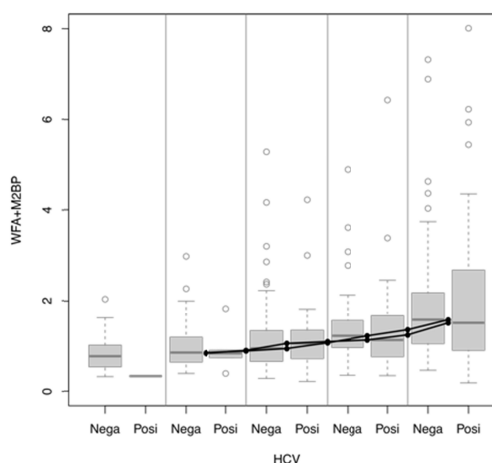
組織学的肝硬変 (F4) に加え、性別 (女性)、HCV 感染 (陽性)、ICG-R15 (>15%)、アルブミン (≤3.5g/mL)、ALT (>65IU/L) および総ビリルビン (>1.5mg/dL) も、血清 WFA⁺-M2BP に対する有意な独立影響因子であった。

(3) 血清 WFA⁺-M2BP レベルの HCV 陰性および陽性症例間における調整：

HCV 感染により層別化した場合の各群における血清 WFA⁺-M2BP の COI 値は、下図のように両群において肝線維化の重症度に伴い上昇傾向を示し、いずれの群においても線維化マーカーとして機能することが期待されたが、その値は HCV 陽性群で有意に高値であった。



我々は、HCV 陰性および陽性症例間において血清 WFA⁺-M2BP に関する同一の診断基準を用いるための調整式として、
 $adjusted\ COI = COI\ (if\ HCV\ negative)\ or\ 0.534 * COI\ (if\ HCV\ positive)$
を得た。この変換により、下図のように各線維化ステージにおける血清 WFA⁺-M2BP レベルの HCV 陰性および陽性症例間の群間差はほぼ解消した。



(4) 血清 WFA⁺-M2BP の調整 COI 値を用いた診断基準の構築：

正常肝 (F0) 症例における血清 WFA⁺-M2BP の調整 COI 値の 80 パーセンタイル値は 1.048 であった。この値は、健常人検体における平均 + 2.5SD 値である 1.0 に近似していた。

調整 COI=1.048 を F1 以上の肝線維化の診断基準として用いた場合、感度は 57.1%、特異度は 79.3%であった。

F3 症例における 80 パーセンタイル値は 1.780 であり、調整 COI=1.780 を肝硬変 (F4) の診断基準として用いた場合、感度は 43.1%、特異度は 86.2%であった。

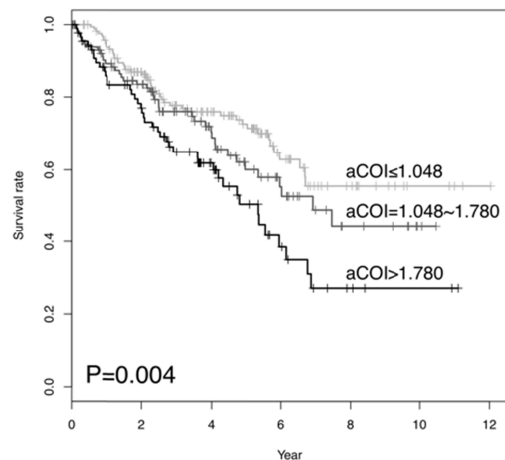
HCV 陰性および陽性症例をそれぞれ対象としたサブグループ解析では、上記診断基準の感度および特異度は両群で同等であった。

(5) 血清 WFA⁺-M2BP による肝細胞癌患者の術後予後予測：

前述の臨床病理学的因子のうち、アルブミン、腫瘍数、血管侵襲と共に組織学的肝硬変 (F4) は術後全生存における有意な独立危険因子であった。そこで、組織学的肝硬変の代わりに血清 WFA⁺-M2BP を用いた肝硬変の予測診断基準である調整 COI>1.780 を用いたところ、これも同様に有意な独立危険因子であった。

調整 COI により ≤1.048、1.048-1.780 および >1.780 の 3 群に層別化したところ、その術後全

生存率は調整 COI の上昇に伴い有意に低下した。



D. 考察

肝硬変は肝切除術における予後危険因子として知られており、術後肝不全の原因として術後生存率を直接的に低下させるとともに、慢性的な組織傷害により肝組織における肝細胞増殖を亢進させることにより、遺伝子変異の蓄積による HCC の多中心性再発率を上昇させる。

血清 WFA⁺-M2BP は、プロテオミクス及びグライコミクスの方法により同定された肝線維化マーカーであり、当研究においても高い診断能を示した。

血清 WFA⁺-M2BP は組織学的肝線維化と同様に HCC 患者の術後全生存における独立危険因子として有意であり、予後危険因子である肝硬変の予測因子として術前評価において有用であると考えられる。

E. 結論

血清 WFA⁺-M2BP は肝機能障害を含めた肝線維化の進行を反映する総合的な肝線維化マーカーとして HCC 患者の肝線維化および術後予後を予測する術前因子としての有用性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chuma M, Sakamoto N, Nakai A, Hige S, Nakanishi M, Natsuizaka M, Suda G, Sho T, Hatanaka K, Matsuno Y, Yokoo H, Kamiyama T, **Taketomi A**, Fujii G, Tashiro K, Hikiba Y, Fujimoto M, Asaka M, Maeda S. Heat shock factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor κB/mitogen-activated protein kinase. *Carcinogenesis*. 2014 Feb; 35 (2):272-281.
- 2) Motomura T, Koga E, **Taketomi A**, Fukuhara T, Mano Y, Muto J, Konishi H, Toshima T, Uchiyama H, Yoshizumi T, Shirabe K, Maehara Y. Efficacy of splenectomy in preventing anemia in patients with recurrent hepatitis C following liver transplantation is not dependent on inosine triphosphate pyrophosphatase genotype. *Hepatol Res*. 2012 Mar; 42 (3):288-295.
- 3) Uchiyama H, Mano Y, **Taketomi A**, Soejima Y, Yoshizumi T, Ikegami T, Shirabe K, Maehara Y. Kinetics of anti-blood type isoagglutinin titers and B lymphocytes in ABO-incompatible living donor liver transplantation with rituximab and plasma exchange. *Transplantation*. 2011 Nov; 92 (10):1134-1139.
- 4) Shirabe K, Takeishi K, **Taketomi A**, Uchiyama H, Kayashima H, Maehara Y. Improvement of long-term outcomes in hepatitis C virus antibody-positive patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy in the modern era.

World J Surg. 2011 May; 35
(5):1072-1084.

- 5) Toshima T, Shirabe K, Takeishi K, Motomura T, Mano Y, Uchiyama H, Yoshizumi T, Soejima Y, **Taketomi A**, Maehara Y. New method for assessing liver fibrosis based on acoustic radiation force impulse: a special reference to the difference between right and left liver. J Gastroenterol. 2011 May; 46 (5):705-711.
- 6) Morita K, **Taketomi A**, Shirabe K, Umeda K, Kayashima H, Ninomiya M, Uchiyama H, Soejima Y, Maehara Y. Clinical significance and potential of hepatic microRNA-122 expression in hepatitis C. Liver Int. 2011 Apr; 31 (4):474-484.

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

B 型肝炎の自然経過および核酸アナログ治療例における線維化マーカーの変化

松本晶博 信州大学医学部附属病院・肝疾患診療相談センター・准教授

研究要旨：B 型慢性肝炎長期経過観察症例における、自然経過および核酸アナログ治療中の Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein (WFA⁺-hM2BP) の変化について検討を行った。肝生検組織との比較では、肝線維化の stage と良好な相関を示した。自然経過例では緩徐な上昇を示した。肝発癌例では高値群において発癌例が多かったが、低値群からも発癌が見られた。核酸アナログ治療例では、治療開始と共に上昇が止まり、横這いまたは下降傾向となった。WFA⁺-hM2BP は B 型慢性肝炎における自然経過および治療経過において、肝線維化の経過観察に有用である可能性があらわれた。

A. 研究目的

35 歳以上の B 型慢性肝炎例において、現在核酸アナログ薬が治療の第一選択となっている。しかしながら、B 型肝炎は自然経過においても病態が落ち着くことがあり、どの時点で治療介入をすべきか難しい。10 年間の長期観察例において M2BP を測定し、ALT および HBV マーカーの経過と併せて解析した。また、B 型アナログ投与例においても肝細胞癌の発癌が見られる。各種核酸アナログ治療における治療中の肝線維化の進展を見ることが必要であるが、肝機能が安定しているため、肝生検を行うことが難しい。今回 WFA⁺-hM2BP を測定することにより、経過中の肝線維化の変化と病態が関連しているかどうか検討した。

B. 研究方法

対象は 5 年以上経過観察が可能であった B 型慢性肝炎患者 58 例（年齢中央値 50 歳、M:F=37:21）で、内訳は、自然経過観察例 34 例、NA 持続治療例 7 例、NA 耐性株出現例 7 例、NA 中止継続例 5 例、NA 中止後再燃例 5 例で

あった。各症例について 2 年ごとの保存血清を用いて WFA⁺-hM2BP を測定した。

C. 研究結果

肝生検を行った 26 例について WFA⁺-hM2BP 値と新犬山分類における線維化および活動性を比較したところ、線維化とは有意な正の相関 ($r=0.550$, $p=0.004$) が見られたが、活動性とは相関しなかった ($r=0.058$, $p=0.777$)。また、新犬山分類の線維化の因子と、WFA⁺-hM2BP の回帰式は $y=0.252x+0.243$ であり、他施設での C 型肝炎における線維化との関係に比べて -hM2BP の値が低値であった。

自然経過における WFA⁺-hM2BP の変化は、肝炎の無い場合は変化率中央値 0.03 C.O.I./年で横這いであった。肝炎のある症例では急速な上昇が見られたが、肝炎が終息すると低下した。この 2 群を合わせた平均 ALT の中央値は 28 IU/L (10~181 IU/L) であり、平均 ALT と WFA⁺-hM2BP の年変化量の間には優位な相関は認められなかった ($r=0.182$, $p=0.896$)。HCC 発症例 4 例における M2BP の変化は非発症例

に比べて上昇している例が多い傾向があった。10年後の WFA⁺-hM2BP の中央値は 0.6 C.O.I. (0.3 ~ 1.2 C.O.I.) vs 0.4 C.O.I. (0.2 ~ 1.5 C.O.I.) であったが、例数が少なく有意差は得られなかった。また、WFA⁺-hM2BP の値が低くても発癌する例が見られた。HBe 抗原のセロコンバージョン前後では肝障害に合わせて上下しているが、10年間の変化量の中央値は 0.05 C.O.I./年 (0.02 ~ 0.3 C.O.I./年) であった。

NA 治療群では NA 開始前には WFA⁺-hM2BP は上昇していたが、NA 持続治療群では肝炎の終息とともに WFA⁺-hM2BP の低下が見られた。一方、耐性株出現群では一過性の WFA⁺-hM2BP の上昇が見られた。NA 中止群中、中止継続可能群では自然経過群と同様に横這いであったが、再燃例では WFA⁺-hM2BP の急激な上昇 (0.7 C.O.I./年) がみられた。

D. 考察

自然経過における B 型慢性肝炎の組織学的な変化を見るには、これまで肝生検が必須であったが、ALT が正常化している例が多く、検査を行うことが難しかった。WFA⁺-hM2BP を測定することにより簡便に肝の線維化の程度の変化を知ることが可能になる可能性が示唆された。HCC の発症例では WFA⁺-hM2BP が高値の例が多かったが、低値の例でも発症例があることが解った。核酸アナログ治療例では治療の経過と WFA⁺-hM2BP の動きが連動しており、治療効果のモニタリングに有用である可能性がある。

E. 結論

新たな線維化マーカーである WFA⁺-hM2BP は B 型慢性肝炎における肝の線維化と有意な正の相関が見られ、肝線維化進行速度の観察に適していた。B 型慢性肝炎の病態は自然経過や治療で大きく変化するため WFA⁺-hM2BP の測定は臨床的に有用である可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morita S, **Matsumoto A**, Umemura T, Shibata S, Kamijo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E. Characteristics and prediction of hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2013 Aug; In press.
- 2) Morita S, **Matsumoto A**, Umemura T, Shibata S, Kamijo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E. Characteristics and prediction of hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2013 Aug; In press.
- 3) Komatsu M, Tanaka N, Shibata SI, Kimura T, Ichikawa Y, Morita S, Joshita S, Nagaya T, Umemura T, Ichijo T, **Matsumoto A**, Yoshizawa K, Tanaka E. Laparoscopic findings of congenital hepatic fibrosis: A case report and review of the published work. *Hepatol Res.* 2013 Jul; In press.
- 4) **Matsumoto A**, Tanaka E, Morita S, Yoshizawa K, Umemura T, Joshita S. Changes in the serum level of hepatitis B virus (HBV) surface antigen over the natural course of HBV infection. *J Gastroenterol.* 2012 Sep; 47 (9):1006-1013.
- 5) Yoshizawa K, **Matsumoto A**, Ichijo T, Umemura T, Joshita S, Komatsu M, Tanaka N, Tanaka E, Ota M, Katsuyama

Y, Kiyosawa K, Abe M, Onji M.
Long-term outcome of Japanese patients
with type 1 autoimmune hepatitis.

Hepatology. 2012 Aug; 56 (2):668-676.

- 6) Joshita S, Umemura T, Katsuyama Y, Ichikawa Y, Kimura T, Morita S, Kamijo A, Komatsu M, Ichijo T, **Matsumoto A**, Yoshizawa K, Kamijo N, Ota M, Tanaka E. Association of IL28B gene polymorphism with development of hepatocellular carcinoma in Japanese patients with chronic hepatitis C virus infection. Hum Immunol. 2012 Mar; 73 (3):298-300.
- 7) **Matsumoto A**, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsushashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos (t) ide analogs in patient with chronic hepatitis B. Hepatol Res. 2012 Feb; 42 (2):139-149.

2. 学会発表

- 1) **松本 晶博**. B 型慢性肝炎の自然史と治療における各種 HBV マーカーの変化. (臨床化学. 42 (Suppl 1). 269). 第 53 回日本臨床化学会, 2013.09.01. 徳島.
- 2) **松本 晶博**, 森田 進, 田中 榮司. B 型肝炎概念の変遷とその臨床的意義 高感度 HBV RNA 定量系による B 型慢性肝炎核酸アナログ治療例の病態解析. 第 49 回日本肝臓学

会総会. (肝臓. 54 Suppl.1. 42)

2013.06.06-07.

- 3) 奥原 禎久, 梅村 武司, 城下 智, 柴田 壮一郎, 木村 岳史, 森田 進, 小松 通治, **松本 晶博**, 吉澤 要, 田中 榮司. Entecavir 治療中における B 型慢性肝炎患者の血清サイトカイン、ケモカインの検討 . 2013.06.06-07. 肝臓. 54 Suppl 1. 407.
- 4) **松本 晶博**, 吉澤 要, 田中 榮司. HBV ジェノタイプと B 型肝炎の病態 核酸アナログ中止後の肝炎再燃に対する HBV genotype の関与 . 2013.02.20. 日本消化器病学会雑誌. 110; 146.
- 5) 森田 進, **松本 晶博**, 上条 のぞみ, 市川 雪, 木村 岳史, 城下 智, 小松 通治, 梅村 武司, 吉澤 要, 田中 榮司. B 型肝炎 HBe 抗原が陰性である慢性 B 型肝炎の発症の因子についての検討. 2012.04.01. 肝臓. 53 (Suppl 1):325.
- 6) **松本 晶博**, 森田 進, 田中 榮司. B 型慢性肝炎の最新治療 B 型肝炎の自然経過例における HBsAg 消失予測と、この予測を用いた核酸アナログ治療例での評価. 2012.04.30. 肝臓. 53 (Suppl 1):11 (SY1-3).

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

C 型肝炎患者における WFA+-M2BP 測定の有用性：肝線維化診断能と発がん予測能

市田隆文 順天堂大学医学部附属静岡病院・消化器内科・教授

研究要旨：C 型肝炎患者を対象に、WFA+-M2BP の肝線維化診断能を既存の代替肝線維化マーカーである肝弾性値、血中ヒアルロン酸値、AST 血小板比と比較した。また、発がん予測因子としての有用性は肝弾性値との比較を行った。肝線維化診断能に関し、WFA+-M2BP は血清代替肝線維化マーカーの中では最も良好な成績を示した。一方、肝発がんリスク評価に関し、WFA+-M2BP 測定は肝弾性値測定同程度に発がん予測能の向上に寄与することが期待された。

研究協力者

玄田拓哉 順天堂大学医学部附属静岡病院・消化器内科・准教授

A. 研究目的

C 型肝炎患者における WFA+-M2BP 測定の臨床的有用性を、肝線維化診断能と肝発がんリスク評価の 2 点から検討する。

B. 研究方法

順天堂静岡病院消化器内科において、肝生検と FibroScan (R) による肝弾性値測定 (liver stiffness measurement; LSM) を同時に実施し、有効な LSM の測定結果が得られた C 型肝炎患者 78 例を対象に、LSM、血清ヒアルロン酸値 (HA)、AST 血小板比 (APRI)、血中 WFA+-M2BP 値の肝線維化ステージに対する診断能を比較した。また、LSM 測定実施後 6 カ月以上の経過観察期間を有する C 型肝炎患者 252 例を対象に肝発がんに関与する要因を検討した。

C. 研究結果

肝生検病理所見を gold standard として F stage ごとの LSM、HA、APRI、WFA+-M2BP

値を検討すると F stage の進行に伴って LSM、HA、APRI、WFA+-M2BP 値が増加する有意な関係を認めた。ROC 解析での $F \geq 2$ に対する AUROC は LSM、HA、APRI、WFA+-M2BP でそれぞれ 0.85、0.77、0.67、0.71 であった。同様に $F \geq 3$ 、 $F=4$ 予測における AUROC はそれぞれ 0.87、0.79、0.74、0.82 と 0.87、0.75、0.71、0.74 であった。それぞれの線維化ステージで WFA+-M2BP のカットオフを設定した場合、 $F \geq 2$ 予測における WFA+-M2BP は感度 72%、特異度 70%、陽性的中度 88%、陰性的中度 47%、正確度 72% であった。同様に、 $F \geq 3$ 予測では感度 84%、特異度 73%、陽性的中度 74%、陰性的中度 83%、正確度 78% であり、 $F=4$ 予測では感度 67%、特異度 78%、陽性的中度 48%、陰性的中度 89%、正確度 76% であった。

肝発がんに関連する要因の単変量解析では SVR、血中アルブミン値、血小板数と共に、WFA+-M2BP と LSM 測定値が肝発がんに関連する有意な要因として抽出された。

WFA+-M2BP と LSM を個別に多変量モデルに投入し検討したところ、WFA+-M2BP と LSM はそれぞれ SVR と共に有意な要因として抽出された。ROC 解析で、WFA+-M2BP もしくは LSM を測定しなかった場合に作成されたモデ

ルの肝発がん予測に対する AUROC は 0.797 であったが、WFA⁺-M2BP もしくは LSM を測定した場合、前者は AUROC を 0.858、後者は 0.834 へ増加させた。SVR 例と非 SVR 例での累積発がん率の検討では、WFA⁺-M2BP で層別化した場合は SVR 例において有意な差が認められ、LSM で層別化した場合は非 SVR 例において有意な差が認められた。WFA⁺-M2BP と LSM の測定結果の相関では、どちらか一方の測定結果のみが肝発がんリスクのカットオフ値以上を示す不一致例が少なからず存在し、このような不一致例からも肝発がんが認められることが明らかとなった。

D. 考察

WFA⁺-M2BP は LSM、HA、APRI と同様に、組織学的肝線維化ステージと良好な相関関係を示した。肝線維化ステージ診断能は、全体としては LSM が最も良好な成績を示したが、血清マーカーの中では WFA⁺-M2BP の診断能が最も高く、特に F_{≥3} の診断に関しては LSM に近い成績を示した。LSM 測定に高額な機器が必要であることや、肥満例などの測定困難例が存在することを考慮すると、WFA⁺-M2BP は C 型肝炎患者における代替肝線維化マーカーとして有用性が高いと考えられた。同様に WFA⁺-M2BP 測定を行うことで、LSM 測定と同程度に肝発がん予測能を向上させ得るが、一方でこれら二つの検査で抽出される肝発がんリスク群は完全に一致するものではなく、相補的に用いることでより効果的な肝発がんリスク患者の拾い上げが可能になると考えられた。

E. 結論

C 型肝炎患者における WFA⁺-M2BP 測定は臨床的に有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Genda T, **Ichida T**, Sakisaka S, Sata M, Tanaka E, Inui A, Egawa H, Umeshita K, Furukawa H, Kawasaki S, Inomata Y. Waiting list mortality of patients with primary biliary cirrhosis in the Japanese transplant allocation system. *J Gastroenterol.* 2014 Feb; 49 (2):324-331.
- 2) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsushashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, **Ichida T**, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology.* 2014 Jan; 59 (1):89-97.
- 3) Narita Y, Genda T, Tsuzura H, Sato S, Kanemitsu Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Hirano K, Iijima K, Wada R, **Ichida T**. Prediction of liver stiffness for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients on interferon-based anti-viral therapy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014 Jan; 29 (1):137-143.
- 4) Sato A, Sata M, Ikeda K, Kumada T, Izumi N, Asahina Y, Osaki Y, Chayama K, Kaneko S, Sakai A, Onji M, Hiasa Y, Omura T, Ozeki I, Yokosuka O, Shiina S, Itsubo M, Nishiguchi S, Hirano K, Ide T, Sakisaka S, Yamasaki T, Hidaka I,

Tanaka M, Kim SR, **Ichida T**. Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan. *Intern Med*. 2013 Jul; 52 (24):2701-2706.

- 5) Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Izumi N, **Ichida T**, Kudo M, Ku Y, Sakamoto M, Nakashima O, Matsui O, Matsuyama Y. Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: A cohort study based on a Japanese nationwide survey. *J Hepatol*. 2013 Apr; 58 (4):724-729.
- 6) Harada K, Hirohara J, Ueno Y, Nakano T, Kakuda Y, Tsubouchi H, **Ichida T**, Nakanuma Y. Incidence of and risk factors for hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: National data from Japan. *Hepatology*. 2013 May; 57 (5):1942-1949.
- 7) Kikuchi T, Hirano K, Genda T, Tsuzura H, Sato S, Kanemitsu Y, Iijima K, **Ichida T**. A study of the effects of the saliva stimulation by nizatidine on dry mouth symptoms of primary biliary cirrhosis. *World J Hepatol*. 2013 Mar; 5 (3):90-96.
- 8) Tsuzura H, Genda T, Sato S, Hirano K, Kanemitsu Y, Narita Y, Kikuchi T, Iijima K, Wada R, **Ichida T**. Association of visceral obesity with high viral load and histological finding in elderly patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Intern Med*. 2012 Mar; 52 (15):1665-1673.

2. 学会発表

- 1) 甘楽 裕徳、玄田 拓哉、佐藤 俊輔、村田 礼人、金光 芳生、成田 諭隆、石川 幸子、菊

池 哲、森 雅史、平野 克治、飯島 克順、**市田 隆文**. インターフェロン治療後の肝発癌予測因子としてのAKR1B10の有用性. 第40回日本肝臓学会西部会. 2013.12.09. 岐阜.

- 2) Tsuzura H, Genda T, Sato S, Murata A, Kanemitsu Y, Narita Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Mori M, Hirano K, Iijima K, **Ichida T**. Acquisition of aldo-keto reductase family 1 member B10 expression in early stage of human hepatocarcinogenesis. AASLD 64th Annual Meeting. 2013.11.05. Washington DC.
- 3) Tsuzura H, Genda T, Sato S, Murata A, Kanemitsu Y, Narita Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Mori M, Hirano K, Iijima K, **Ichida T**. Aldo-keto reductase family 1 member B10 and platelet count predict the risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients receiving interferon therapy. AASLD 64th Annual Meeting. 2013.11.05. Washington DC.
- 4) Sato S, Genda T, Murata A, Tsuzura H, Kanemitsu Y, Narita Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Mori M, Hirano K, Iijima K, **Ichida T**. The impact of aldo-keto reductase family 1 member B10 expression on the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. AASLD 64th Annual Meeting. 2013.11.05. Washington D.C. USA.
- 5) 成田 諭隆、玄田 拓哉、村田 礼人、甘楽 裕徳、佐藤 俊輔、金光 芳生、石川 幸子、菊池 哲、森 雅史、平野 克治、飯島 克順、**市田 隆文**. Fibroscan (R) を用いたC型慢性肝炎患者のインターフェロン治療後肝発

癌予測. 第 17 回日本肝臓学会大会.

2013.10.11. 東京.

- 6) 佐藤 俊輔、玄田 拓哉、**市田 隆文**. C 型肝炎における発癌を予測する新規バイオマーカー-AKR1B10. 第 17 回日本肝臓学会大会. 2013.10.09. 東京.
- 7) 佐藤 俊輔、玄田 拓哉、**市田 隆文**. C 型肝炎における発癌を予測する新規組織学的分子マーカー-AKR1B10. 第 99 回日本消化器病学会総会. 2013.03.21. 鹿児島.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

新規肝線維化マーカーWFA⁺-M2BP と肝発癌に関する解析
八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター・臨床研究センター長

研究要旨：新規肝線維化マーカーWFA⁺-M2BP と肝癌発生率との関連について検討した。対象は当院で肝生検を行った HCV 単独感染例 707 例。WFA⁺-M2BP 値は肝線維化ステージを反映しながら、測定値に順じた C 型肝炎の発癌リスクを示した。またさらに WFA⁺-M2BP 値が IFN 治療によりウイルス学的著効 (SVR) 後の発癌予測に有用であるか検討した。SVR 238 例の IFN 治療後 6 か月の WFA⁺-M2BP 値は多変量解析において有意な発癌因子として抽出された。WFA⁺-M2BP は肝線維化マーカーであるとともに、C 型肝炎の発癌リスクを効率よく示した。

研究協力者

山崎一美 長崎医療センター・臨床研究センター・臨床疫学研究室長
佐々木龍 長崎医療センター・肝臓内科・医師

A. 研究目的

C 型肝炎の肝癌発生率は線維化の進展とともに肝癌発生率は高くなり、肝硬変からの発癌率が最も高い。肝線維化の評価は肝生検がもっとも信頼できるが、侵襲度も高く、被験者に与える負担は大きい。

肝組織の特異的糖鎖変化をとらえる Mac2 binding protein (WFA⁺-M2BP) が血中で測定できるよることが報告された (Atsushi K, et al. Scientific Reports 3, Article number: 1065doi: 10.1038 / srep01065)。WFA⁺-M2BP が、C 型肝炎患者において有用な測定系となりうるのか検討した。

B. 研究方法

(1) 肝線維化と発癌率の検討

当院で肝生検を行った C 型慢性肝疾患 707 例を対象とした。年齢中央値 57 才、男 352 (49.7%)。F0/1 : 274 例、F2 : 193 例、F3 : 120 例、F4 : 120 例。

(2) IFN 治療ウイルス学的著効 (SVR) 後の発癌予測因子としての有用性

当院で IFN を施行しウイルス学的著効 (SVR) が得られ、肝細胞癌既往症例・IFN 治療終了後 1 年以内の肝発癌症例を除外した 238 例を対象とした。

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたり、患者の個人情報はずべて秘匿された状態で扱った。

C. 研究結果

(1) 肝線維化と発癌率の検討

i) WFA⁺-M2BP 値 (COI) は、肝生検の線維化ステージの進展に伴い高値であった (F1 : 1.3±0.1、F2 : 2.2 ±0.1、F3 : 3.3 ±0.2、F4 :

5.2±0.3、p<0.001)。

- ii) WFA⁺-M2BP 値を 3 群に層別化 (<1、1-4、>4) して累積発癌率を検討。5 年でそれぞれ 0%、3.9%、30.5%、10 年 1.1%、14.8%、54.1%、15 年 3.1%、31.6%、77.0%。WFA⁺-M2BP 高値群の発癌率は高く、3 群間に有意差を認めた (p<0.001)。線維化ステージが進展しても WFA⁺-M2BP 低値群の発癌率は低い。
- iii) Cox 比例ハザードにて抽出された発癌リスク因子は WFA⁺-M2BP 高値、F4、AFP 20、高齢、IFN 未治療であった。
- iv) WFA⁺-M2BP と AFP、血小板の発癌予測能を時間依存性 AUROC にて対比したところ、WFA⁺-M2BP が最も有用であった。

- (2) SVR 後の発癌予測因子としての有用性
SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値≤2.0 (n=220) で
の累積肝発癌率は 5 年で 5.0%に対し、SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値>2.0 (n=18) の症例では 38.1%であった (p<0.0001)。多変量解析においても有意なリスク因子として抽出された。

D. 考察

- (1) C 型慢性肝疾患患者の最終転帰は、肝癌死亡によるところが多い。肝癌の発生率は背景肝の線維化ステージの進展度に従って高くなる。肝線維化は肝生検がもっとも信頼される検査法であるが、患者負担が高く、安易に行えない。WFA⁺-M2BP は血液検査で行い、20 分以内に測定結果が得られる。患者負担は極端に軽減され、迅速に結果説明が行うことができ、肝疾患診療に大変有用となりうる。
今回われわれは、WFA⁺-M2BP が C 型慢性肝疾患症例に有用であるか検討した。線維化ステージ進展とともに WFA⁺-M2BP 値は有意に上昇していた。そして測定値に順じた C 型肝炎の発癌リスクを示した。WFA⁺-M2BP は、観血的操作を伴う肝生検の代用として期待され

る。

- (2) C 型肝炎はウイルス駆除により肝発癌が抑制される。しかし SVR 後の肝発癌も少なからず報告されている。高齢、男性、高度線維化、飲酒等、AFP 値がリスク因子と報告されている。ここに新たな予測因子として WFA⁺-M2BP も有用であることがわかった。今後新規抗ウイルス剤の台頭により SVR 率は向上し、発癌リスクの高いで SVR 症例が増えることが予想されている。効率よく高リスク群を管理するために、WFA⁺-M2BP は期待される。

E. 結論

WFA⁺-M2BP 値は、肝線維化を反映しながら、C 型肝炎に発癌リスクを示していた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ito K, Yotsuyanagi H, **Yatsushashi H**, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014 Jan; 59 (1):89-97.
- 2) Izumi N, Asahina Y, Kurosaki M, Yamada G, Kawai T, Kajiwara E, Okamura Y, Takeuchi T, Yokosuka O, Kariyama K, Toyoda J, Inao M, Tanaka E, Moriwaki H, Adachi H, Katsushima S, Kudo M, Takaguchi K, Hiasa Y, Chayama K, **Yatsushashi H**, Oketani M, Kumada H.

- Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFN α -2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study. *J Gastroenterol.* 2013 Mar; 48 (3):382-390.
- 3) Ueda T, Tsuchiya K, Hashimoto S, Inoue T, Enomoto N, Inao M, Tanaka A, Kaito M, Imazeki F, Nishiguchi S, Mochida S, Yokosuka O, **Yatsuhashi H**, Izumi N, Kudo M. Retreatment with Peginterferon α -2a + Ribavirin in Patients Who Failed Previous Peginterferon α -2b + Ribavirin Combination Therapy. *Dig Dis.* 2012 Dec; 30 (6):554-560.
 - 4) Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y, Matsuura K, **Yatsuhashi H**, Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, Mizokami M. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon-alpha in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut.* 2012 Nov; 62 (9):1340-1646.
 - 5) Taura N, Ichikawa T, Miyaaki , Kadokawa Y, Tsutsumi T, Tsuruta S, Kato Y, Inoue O, Kinoshita N, Ohba K, Kato H, Ohata K, Masuda J, Hamasaki K, **Yatsuhashi H**, Nakao K. Baseline Serum Cholesterol Is Associated with a Response to Pegylated Interferon Alfa-2b and Ribavirin Therapy for Chronic Hepatitis C Genotype 2. *Gastroenterol Res Pract.* 2012 Nov; 2012:Article ID:317580, 7 pages.
 - 6) Tamada Y, **Yatsuhashi H**, Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Muro T, Shimada M, Hijioka T, Satoh T, Mano Y, Komeda T, Takahashi M, Kohno H, Ota H, Hayashi S, Miyakawa Y, Abiru S, Ishibashi H. Hepatitis B virus strains of subgenotype A2 with an identical sequence spreading rapidly from the capital region to all over Japan in patients with acute hepatitis B. *Gut.* 2012 May; 61 (5):765-773.
 - 7) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, **Yatsuhashi H**, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos (t) ide analogs in patient with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2012 Feb; 42 (2):139-149.
 - 8) Fujino T, Nakamuta M, Aoyagi Y, Kohjima M, Satoh T, Fukuda M, Ishibashi H, **Yatsuhashi H**, Enjoji M. Early dynamics of viremia in patients with genotype 1b chronic hepatitis C: Peg-IFN α 2a shows earlier viral decline than peg-IFN α 2b in combination therapy with ribavirin. *Med Sci Monit.* 2011 Dec; 17 (12):CR687-691.
 - 9) Miyaaki H, Ichikawa T, **Yatsuhashi H**, Taura N, Miuma S, Usui T, Mori S, Kamihira S, Tanaka Y, Mizokami M, Nakao K. Suppressor of cytokine signal 3 and IL28 genetic variation predict the viral response to peginterferon and ribavirin. *Hepatol Res.* 2011 Dec; 41 (12):1216-1222.
 - 10) Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A,

Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, **Yatsuhashi H**, Izumi N. Age and total ribavirin dose are independent predictors of relapse after interferon therapy in chronic hepatitis C revealed by data mining analysis. *Antivir Ther.* 2011 Oct; 17 (1):35-43.

- 11) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, **Yatsuhashi H**, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet.* 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 12) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige

S, Adachi H, Hino K, **Yatsuhashi H**, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 2011 May; 49 (5):1853-1860.

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

肝硬変の病因と WFA⁺-M2BP 値の異同（C 型肝硬変と NASH 肝硬変）

髭 修平 札幌厚生病院・第 3 消化器内科・主任部長

研究要旨：新規の肝線維化マーカーとして開発された WFA⁺-M2BP を、C 型肝硬変と NASH 肝硬変の計 54 例で測定し、肝硬変と診断された症例の WFA⁺-M2BP 測定値を比較した。その結果、体重、BMI、GTP に差のある 2 群であったが、その他の背景要因に差を認めない症例群において、C 型肝硬変症例の WFA⁺-M2BP 値が NASH 肝硬変症例に比べ有意に高値の傾向を示した。病因により肝組織内の線維の進展や量的な差を生ずる可能性があり、線維化マーカーの評価の際には病因別に検討する必要があることが示された。

A. 研究目的

本研究班にて開発された新規の肝線維化マーカーである WFA⁺-M2BP の有用性に関して、平成 24 年度（C 型肝硬変症例における M2BP の経時的変動と肝発癌）、平成 25 年度（NAFLD における肝線維化評価と WFA⁺-M2BP の有用性）に研究結果を報告した。それぞれ単一の病因における肝の線維化と WFA⁺-M2BP 測定値には有意な相関関係を認めたと、両群間に WFA⁺-M2BP レベルの差がある可能性が考えられた。

そこで、両群で肝硬変と診断されて登録・検討された症例を抽出し、WFA⁺-M2BP に差がみられるか検討した。

B. 研究方法

(1) 対象症例

本研究班の平成 24 年度研究時の C 型肝炎・肝硬変症例と平成 25 年度研究時の非アルコール性脂肪性肝障害（NAFLD）症例の中から、肝硬変と診断された 54 症例（C 型 38 例、NASH16 例）を検討対象とした。

C 型肝硬変の診断は主に画像により判定され、NASH 肝硬変は全例、肝生検による組織学的

判定を行った。

WFA⁺-M2BP 測定の時期は、C 型肝硬変症例は、2003 年を起点として観察を開始した時期の保存血清を使用し、NASH 肝硬変では肝生検施行と同時期の保存血清を用いた。

(2) 検討項目

両群症例の、年齢、性別、身長、体重、BMI を背景要因として検討した。

血液検査項目は、血小板、PT 活性値、アルブミン、ビリルビン、AST、ALT、コリンエステラーゼ、GTP、総コレステロール、AFP、PIVKA-II、とした。

また、線維化マーカーとして、WFA⁺-M2BP を測定し、さらに FIB-4 index を以下の式により算出し、検討項目に含めた。

$$\text{FIB-4} = \text{年齢 (歳)} \times \text{AST (U/L)} / \text{血小板} \\ (10^9/\text{L}) \times \text{ALT (U/L)}^{1/2}$$

C. 研究結果

(1) C 型肝硬変と NASH 肝硬変の背景

C 型肝硬変症例（HCV 群）は、64.1 ± 9.3（歳）、男/女は 14/24 例、NASH 肝硬変症例（NASH 群）は、65.8 ± 7.2（歳）、男/女は 5/11

例で、両群に差を認めなかったが、体重、BMIは、HCV群では 58.5 ± 9.4 、 23.5 ± 2.8 、NASH群では 71.3 ± 13.5 、 28.9 ± 5.6 と、病態を反映して2群に有意差を認めた。(P<0.01)

(2) 血液検査の2群間比較

両群において、検討項目に示した測定値を比較検討した。GTP値が、HCV群の 50.9 ± 36.7 に対して、NASH群では 90.9 ± 59.0 と有意に高値を示した。(p=0.02)

(3) 線維化マーカーの2群比較

線維化マーカーとして、WFA+-M2BPとFIB-4 indexを測定した。WFA+-M2BPは、HCV群で 7.30 ± 5.72 、NASH群では 3.96 ± 2.71 と両群間に有意差を認めた。(p<0.01)一方、FIB-4 indexは、HCV群 7.13 ± 4.19 、NASH群 6.43 ± 3.48 で差を認めなかった。(p=0.53)

(4) WFA+-M2BP と他の要因の相関

WFA+-M2BP値との相関を示す項目を両群合わせて検討すると、FIB-4 index (r=-0.444)、アルブミン (r=-0.628)、コリンエステラーゼ (r=-0.601)、血小板 (r=-0.431)、総コレステロール (r=-0.363)、ビリルビン (r=0.336)、PT活性 (r=-0.318)が有意 (p<0.05) な相関を示した。

D. 考察

今回の検討では症例数が限られ、また、両者の診断方法も異なるため、正確な比較を行うためには、多数例での検討が必要であるものの、C型肝硬変とNASH肝硬変では、同じ肝硬変症例の比較でもWFA+-M2BP測定値に差がある可能性が示された。

両者の肝障害や線維化進展様式は、病因の違いを反映して異なっている。特にNAFLD症例

ではpericellular fibrosisが組織学的特徴のひとつであるが、肝組織内の線維量としてはさほど多くなならない可能性もある。一方で、C型慢性肝障害症例において、WFA+-M2BP値は肝内の線維化以外に、活動性 (grade) にも比較的良好な相関を示す可能性があり、C型肝硬変症例のWFA+-M2BPは線維化と炎症の総和を反映する可能性も考慮する必要がある。

線維化の指標として用いられるFIB-4 indexは、WFA+-M2BP値と良好な相関を示すが、病因別の検討において、WFA+-M2BP値の場合には、HCV群とNASH群に差を認め、FIB-4は両群で同レベルであった。FIB-4が、年齢、血小板数、AST、ALTから計算で算出される指数であるのに対して、WFA+-M2BPは血液中の糖タンパクを直接測定し線維化と相関するマーカーである点に大きな違いがあるが、前述のように、WFA+-M2BPが線維化以外の要因に影響を受けるかについては、さらなる検討が必要と考えられる。

E. 結論

肝硬変症例におけるWFA+-M2BP測定値は病因によりレベルが異なる可能性が示され、測定の判定には病因を勘案して行う必要が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chuma M, Sakamoto N, Nakai A, **Hige S**, Nakanishi M, Natsuzaka M, Suda G, Sho T, Hatanaka K, Matsuno Y, Yokoo H, Kamiyama T, Taketomi A, Fujii G, Tashiro K, Hikiba Y, Fujimoto M, Asaka M, Maeda S. Heat shock factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor κ B/mitogen-activated protein kinase. *Carcinogenesis*. 2014 Feb; 35 (2):272-281.

- 2) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, **Hige S**, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One*. 2014 Feb; 9 (2):e86449.
- 3) Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, **Hige S**, Sakamoto M, Kage M, Mizokami M, Narimatsu H. A serum “sweet-doughnut” protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep*. 2013 Jan; 3:1065 (Article number).
- 4) Kobayashi T, **Hige S**, Terashita K, Nakai M, Horimoto H, Sho T, Nakanishi M, Ogawa K, Chuma M, Sakamoto N, Asaka M. Anemia and thrombocytosis induced by ribavirin monotherapy in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol*. 2012 Nov; 47 (11):1228-1237.
- 5) Saito H, Ito K, Sugiyama M, Matsui T, Aoki Y, Imamura M, Murata K, Masaki N, Nomura H, Adachi H, **Hige S**, Enomoto N, Sakamoto N, Kurosaki M, Mizokami M, Watanabe S. Factors responsible for the discrepancy between IL28B polymorphism prediction and the viral response to peginterferon plus ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res*. 2012 Oct; 42 (10):958-965.
- 6) Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, **Hige S**, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, Narimatsu H, Mizokami M. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. 2012 Oct; 56 (4):1448-1456.
- 7) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, **Hige S**, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*. 2012 Jun; 7 (6).
- 8) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, **Hige S**, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY,

- Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet.* 2012 Jun; 13 (47).
- 9) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, **Hige S**, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos (t) ide analogs in patient with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2012 Feb; 42 (2):139-149.
- 10) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, **Hige S**, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet.* 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 11) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, **Hige S**, Adachi H, Hino K, Yatsuhashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 2011 May; 49 (5):1853-1860.
- 12) Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, **Hige S**, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepatol Res.* 2011 Jun; 41 (6):505-511.

2. 学会発表

- 1) **Hige S**, Karino Y, Kimura M, Arakawa T, Nakajima T, Kuwata Y, Ozeki I, Sato T, Ohmura T, Toyota J. Paradoxical progression of anemia at delayed phase of triple therapy with telaprevir for ITPA non-CC patients with chronic hepatitis C. AASLD The Liver Meeting 2013. 2013.11.05. Washington D.C. USA.
- 2) **髙 修平**、狩野 吉康、小関 至、木村 睦海、荒川 智宏、中島 知明、桑田 靖昭、赤池 淳、佐藤 隆啓、大村 卓味、豊田 成司. C型慢性肝炎に対する simeprevir 併用治療の有効性 -telaprevir 併用との比較. 第 17 回日本肝臓学会大会 (肝臓. 54 (Suppl 2):A621). 2013.10.10. 東京.
- 3) **髙 修平**、狩野 吉康、豊田 成司. C型肝炎に対する 3 剤併用療法における治療成績と至適投与量の検討. 第 49 回日本肝臓学会総会. SY1-10. (肝臓. 54 (Suppl 1):A20). 2013.06.06. 東京.

- 4) **髙 修平**、小関 至、木村 睦海、荒川 智宏、中島 知明、桑田 靖昭、佐藤 隆啓、大村 卓味、狩野 吉康、豊田 成司. ラミブジン耐性アデホビル併用 B 型肝炎に対する耐性出現の検討. 第 39 回 日本肝臓学会東部会. 一般演題-B 型肝炎 1 (O-4). 2012.12.06. 東京.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

- (1) NAFLD における WFA⁺-M2BP の線維化予測に対する有用性
- (2) NAFLD における耐糖能異常と肝線維化

日野啓輔 川崎医科大学・肝胆膵内科学・教授

研究要旨：

(1) 3施設で肝生検を行い組織学的に診断した症例に対し非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) における WFA⁺-M2BP の線維化予測に対する有用性を解析した。

(2) 耐糖能異常の是正は NASH 肝病変の進展を抑制するための重要な治療介入であるが、どの糖代謝マーカーを以て治療介入の指標とすべきかは明らかにされていない。そこで NASH の肝線維化進展を予測しうる糖代謝マーカーを同定する目的で、NAFLD 患者を対象に経口糖負荷試験を行い、種々の糖代謝マーカーと肝線維化進展との関係を検討した。

A. 研究目的

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) が増加し、最も高頻度な肝疾患として注目されている。そのなかには進行する非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) が含まれ、肝硬変への進行や肝癌の合併を視野に入れた診療が必要となる。現在肝生検が診断のために必須である。このため侵襲の少ない NASH の血液診断マーカーは世界中で研究されているが、いまだ信頼されるマーカーはなく、新たな診断マーカーが求められている。

今回、C 型慢性肝炎の線維化診断マーカーとして報告された Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP) の NAFLD の線維化予測に対する有用性について解析した。

さらに、課題 2 において NASH の肝線維化進展を予測しうる糖代謝マーカーを同定する目的で、NAFLD 患者を対象に経口糖負荷試験を行い、種々の糖代謝マーカーと肝線維化進展との関係を検討した。

B. 研究方法

(1) 愛媛大学、市立池田病院、川崎医科大学、札幌厚生病院で肝生検を施行し、NAFLD と診断した症例を対象とした。肝生検組織については 3 人の NASH の診断に精通した病理組織診断医を交えて検討会を行い、確定診断を行った。

(2) 2009 年 1 月から 2014 年 2 月までに当科において糖尿病と診断されていない NAFLD 患者 47 例に対して 75g OGTT と肝生検を行い、線維化進展群 (Brunt stage 2-4) と非線維化進展群 (線維化なし又は Brunt stage 1) の 2 群において、種々の糖代謝マーカー、線維化マーカーおよび生化学所見を比較検討した。

なお、上述の検証に用いた全ての血清サンプルと組織サンプルは、インフォームドコンセントにより研究対象者から同意の得られたものである。またすべてサンプル収集機関および研究実施機関の各倫理審査委員会で承認されたものを用いている。

C. 研究結果

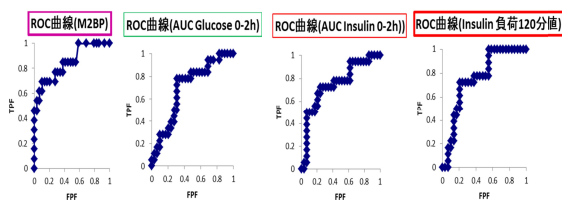
(1) M2BP は線維化進展に伴い増加し、線維化進展例の拾い上げには有用であった（詳細については阿部 雅則 愛媛大学大学院 地域医療学講座・准教授の項参照）。

(2) 非線維化進展群 (Brunt stage 0-1) と線維化進展群 (stage 2-4) の2群で比較すると、性別 ($p < 0.01$)、AST ($p < 0.01$)、PLT ($p < 0.05$)、ALB ($p < 0.05$)、4型コラーゲン7S ($p < 0.01$)、ヒアルロン酸 ($p < 0.01$)、M2BP ($p < 0.01$)、IRI ($p < 0.05$)、HOMA-IR ($p < 0.01$)、0-2時間の血糖曲線下面積 (血糖 AUC 0-2h) ($p < 0.05$)、およびインスリン AUC 0-2h ($p < 0.01$) で有意差を認めた。また有意差を認めた項目で多変量解析を行ったところ、NAFLDにおける肝線維化に寄与する因子は、血糖 AUC 0-2h 値のみであった (Odds ratio 10.241 $P=0.034$)

M2BPも肝線維化に寄与する因子として $p=0.057$ と強い傾向があった。

肝線維化検出に対する因子のROC曲線下面積 (AUROC) の解析を行ったところ、M2BPが0.846と最も強い肝線維化検出率であった。Insulinの負荷120分値およびAUC 0-2h値は、0.7529とM2BPに準ずる高い肝線維化の診断的中率を示した (図1)

図1



D. 考察、結論

(1) NAFLD 症例において、WFA⁺-M2BP は線維化進展例の拾いあげに有用なマーカーであった。

(2) 75g OGTT における血糖およびインスリンの AUC 0-2h 値やインスリン 120 分値の上昇は肝線維化進展関連因子であった。WFA⁺-M2BP は NASH 線維化進展を予測する有用なマーカーであった。したがって、NAFLD における WFA⁺-M2BP 高値例 (1.2) は経口糖負荷試験を行う良い指標と考えられ、血糖およびインスリンの AUC 0-2h 値やインスリン 120 分値の上昇は早期治療介入の指標になりうる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, **Hino K**, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. PLoS One. 2014 Feb; 9 (2):e86449.
- 2) **Hino K**, Hara Y, Nishina S. Mitochondrial reactive oxygen species as a mystery voice in hepatitis C. Hepatol Res. 2014 Feb; 44 (2):123-132.
- 3) Korenaga K, Korenaga M, Teramoto F, Suzuki T, Nishina S, Sasaki K, Nakashima Y, Tomiyama Y, Yoshioka N,

- Hara Y, Moriya T, **Hino K**. Clinical usefulness of non-protein respiratory quotient measurement in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. 2013 Dec; 43 (12):1284-1294.
- 4) **Hino K**, Nishina S, Hara Y. Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: mechanisms and relevance to hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Nov; 28 (Suppl 4):93-98.
 - 5) Tomiyama Y, Nishina S, Hara Y, Kawase T, **Hino K**. Hepatic oxidative stress in ovariectomized transgenic mice expressing the hepatitis C virus polyprotein is augmented through suppression of AMPK/PGC-1alpha signaling. *Hepatol Res*. 2013 Oct; In press.
 - 6) Nakamura M, Nakashima H, Tsutsumi K, Matsumoto H, Muta Y, Ueno D, Yoshida K, **Hino K**, Urakami A, Tanaka M. First jejunal vein oriented mesenteric excision for pancreatoduodenectomy. *J Gastroenterol*. 2013 Aug; 48 (8):989-995.
 - 7) Tomiyama Y, Takenaka K, Kodama T, Kawanaka M, Sasaki K, Nishina S, Yoshioka N, Hara Y, **Hino K**. Risk factors for survival and the development of hepatocellular carcinoma in patients with primary biliary cirrhosis. *Intern Med*. 2013 Jul; 52 (14):1553-1559.
 - 8) Kawanaka M, Nishino K, Nakamura J, Suehiro M, Goto D, Urata N, Oka T, Kawamoto H, Nakamura H, Yodoi J, **Hino K**, Yamada G. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with vitamins E and C: a pilot study. *Hepatic Med Evi Res*. 2013 Mar; 5:11-16.
 - 9) Matsui T, Motoki Y, Inomoto T, Miura D, Kato Y, Suenaga H, **Hino K**, Nojima J. Temperature-Related Effects of Adenosine Triphosphate-Activated Microglia on Pro-Inflammatory Factors. *Neurocrit Care*. 2012 Oct; 17 (2):293-300.
 - 10) **Hino K**, Nishina S, Hara Y. Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: insights from recent evidence. *Clin J Gastroenterol*. 2012 Aug; 5 (4):251-256.
 - 11) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, **Hino K**, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. *PLoS One*. 2012 Jun; 7 (6).
 - 12) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuura K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, **Hino K**, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other

East Asian populations. BMC Med Genet. 2012 Jun; 13 (47).

- 13) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, **Hino K**, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. Hum Mol Genet. 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 14) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, **Hino K**, Yatsushashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. J Clin Microbiol. 2011 May; 49 (5):1853-1860.

- 15) Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, **Hino K**, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. Hepatol Res. 2011 Jun; 41 (6):505-511.

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特許第 5070552 号. C 型慢性肝炎治療効果予測のための検査方法及び検査用キット. 加藤 宣之、池田 正徳、是永 匡紹、**日野 啓輔**.

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記事項なし

NAFLD における血清 WFA⁺-M2BP の線維化予測に対する有用性
阿部雅則 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・准教授

研究要旨：非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) における血清 WFA⁺-M2BP 値の線維化予測に対する有用性を解析した。対象は国内の 4 施設で肝生検を行い診断した NAFLD 289 症例。肝組織での線維化 (stage) と血清 WFA⁺-M2BP 値との関係を解析した。血清 WFA⁺-M2BP 値は NAFLD の肝線維化診断マーカーとして有用であった。

研究分担者（共同研究者）

今井康陽 市立池田病院・病院長
日野啓輔 川崎医科大学・肝胆膵内科学・教授
髭 修平 札幌厚生病院・第 3 消化器内科・主任部長
坂元亨宇 坂元亨宇 慶應義塾大学・医学部・病理学・教授

研究協力者

山田剛太郎 川崎医科大学附属川崎病院・総合内科学 2・特任教授
鹿毛政義 久留米大学・病理学・教授
是永匡昭 国立国際医療研究センター・肝炎・免疫研究センター・肝疾患研修室長
三宅映己 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・特任講師
日浅陽一 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・教授

A. 研究目的

近年、肥満人口の急増により非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) が増加し、最も高頻度な肝疾患として注目されている。そのなかには

進行する非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) が含まれ、肝硬変への進行や肝臓の合併を視野に入れた診療が必要となる。NAFLD の線維化進展については血液マーカーや画像診断を用いた診断法が開発されてきているが、いまだ信頼されるマーカーはなく、肝臓診断がゴールドスタンダードであり、新たな非侵襲的診断マーカーが求められている。

今回、C 型慢性肝炎の線維化診断マーカーとして報告された WFA⁺-Mac-2 binding protein (M2BP) の NAFLD の線維化予測に対する有用性について解析した。

B. 研究方法

愛媛大学、市立池田病院、川崎医科大学、札幌厚生病院において肝生検を施行し、NAFLD と診断した 289 例を対象とした。男性 159 例、女性 130 例。平均年齢は 54.8±14.6 歳。肝臓診断については Brunt 分類を用いて 3 人の病理医（慶應義塾大学 坂元亨宇先生、川崎医科大学附属川崎病院総合内科学 2 山田剛太郎先生、久留米大学病院病理部 鹿毛政義先生）がブラインドで診断し、全体で討議を行って統一した見解を得た。生検時に採取した血清を用いて WFA⁺-M2BP 値を測定し、肝臓での線維化 (stage) との関係を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は各施設の倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

- (1) 肝組織診断は stage 0 35 例、stage 1 113 例、stage 2 49 例、stage 3 41 例、stage 4 51 例であった。
- (2) 血清 WFA⁺-M2BP 値は、stage 0: 0.57±0.49、stage 1: 0.70±0.33、stage 2: 1.02±0.53、stage 3: 1.57±0.98、stage 4: 2.96±2.53 であり、線維化の進展に伴って上昇した。
- (3) 単変量解析で、血清 WFA⁺-M2BP 値は stage 0-2 と stage 3-4、stage 0-3 と stage 4 との鑑別に有用であった (ともに p<0.001)。
- (4) 多変量解析では、血清 WFA⁺-M2BP 値は stage 0-2 と stage 3-4 (Odds 比 6.650 [2.476-21.975], p<0.001)、stage 0-3 と stage 4 (Odds 比 5.072 [2.006-16.979], p=0.003) との鑑別に有用な独立した因子であった。
- (5) ROC 解析で線維化進展の予測に有用なカットオフ値を解析すると、stage 3 以上 0.94、stage 4 1.46 であり、正診率はそれぞれ 78.2%、84.4%であった。
- (6) 他の線維化マーカーやスコアとの有用性を ROC 曲線下面積 (AUCROC) で比較した。血清 WFA⁺-M2BP 値は血小板数、ヒアルロン酸、AST/ALT 比、APRI、Fib-4 に比べて stage 3 以上 (AURROC 0.876)、stage 4 (AURROC 0.878) の判別に有用であった。

D. 考察

今回の検討で、血清 WFA⁺-M2BP 値は NAFLD の線維化診断マーカーとして有用であることが示された。今回の血清 WFA⁺-M2BP 値が既報の C 型慢性肝炎と比べて全体的に低くなっているが、NAFLD とウイルス性肝炎との進展様式の違いを示唆しているものと思われる。脂肪化、肝細胞壊死・変性などの関連についても検討していく必要がある。

E. 結論

血清 WFA⁺-M2BP 値は NAFLD の線維化診断マーカーとして有用であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyake T, **Abe M**, Tokumoto Y, Hirooka M, Furukawa S, Kumagi T, Hamada M, Kawasaki K, Tada F, Ueda T, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. B cell-activating factor is associated with the histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Int.* 2013 Jun; 7 (2):539-547.
- 2) Takeji S, Hirooka M, Koizumi Y, Tokumoto Y, **Abe M**, Ikeda Y, Nadano S, Hiasa Y, Onji M. Des-gamma-carboxy prothrombin identified by P-11 and P-16 antibodies reflects prognosis for patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Apr; 28 (4):671-677.
- 3) Tada F, **Abe M**, Kawasaki K, Miyake T, Chen S, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. B cell activating factor in obesity is regulated by oxidative stress in adipocytes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition.* 2013 Mar; 52 (2):120-127.

- 4) Miyake T, Kumagi T, Hirooka M, Furukawa S, Koizumi M, Tokumoto Y, Ueda T, Yamamoto S, **Abe M**, Kitai K, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Body mass index is the most useful predictive factor for the onset of nonalcoholic fatty liver disease: a community-based retrospective longitudinal cohort study. *J Gastroenterol*. 2013 Mar; 48 (3):413-422.
- 5) Kasawaki K, **Abe M**, Tada F, Tokumoto Y, Chen S, Miyake T, Furukawa S, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M. Blockade of B-cell-activating factor signaling enhances hepatic steatosis induced by a high-fat diet and improves insulin sensitivity. *Laboratory Investigation*. 2013 Mar; 93:311-321.
- 6) Yoshizawa K, Matsumoto A, Ichijo T, Umemura T, Joshita S, Komatsu M, Tanaka N, Tanaka E, Ota M, Katsuyama Y, Kiyosawa K, **Abe M**, Onji M. Long-term outcome of Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2012 Aug; 56 (2):668-676.

2. 学会発表

- 1) 徳本 良雄、**阿部 雅則**、日浅 陽一. 非アルコール性脂肪性肝疾患診断における腹腔鏡検査の有用性. 第 17 回日本肝臓学会大会 2013.10.09-12. 東京.
- 2) 川崎 敬太郎、**阿部 雅則**、徳本 良雄、ほか. 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)

の肝脂肪化における B 細胞活性化因子 (BAFF) の役割. 第 49 回日本肝臓学会総会. O-67. 2013.06.06. 東京.

- 3) **阿部 雅則**、陳 式儀、姚 立穎、ほか. 非アルコール性脂肪性肝疾患の病態における骨髄由来抑制細胞の役割. 第 50 回日本消化器免疫学会. O-379. 2013.05.30. 東京.
- 4) **阿部 雅則**、三宅 映己、藤堂 裕彦、ほか. 高齢者における糖尿病を合併した脂肪肝の特徴. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2013.05.16-18. 熊本.
- 5) 多田 藤政、川崎 敬太郎、**阿部 雅則**、ほか. NAFLD における内臓脂肪組織の酸化ストレスと B 細胞活性化因子 (BAFF) との関連. 第 99 回日本消化器病学会. PL-047. 2013.03.22. 鹿児島.
- 6) 三宅 映己、徳本 良雄、**阿部 雅則**. 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) 発症において BMI は最も有用な予測因子である. 第 99 回日本消化器病学会. PD2-1-1. 2013.03.21. 鹿児島.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

原発性胆汁性肝硬変における疾患特異的遺伝子発現の基礎検討

上野義之 山形大学・内科学第二講座・教授

研究要旨：原発性胆汁性肝硬変（PBC）は、肝内胆管の進行性破壊と消失が特徴的な原因不明の疾患である。しかしその病因の詳細は不明であり、一定の見解を得るに至っていない。本研究では、より感度が高く定量性にもすぐれている次世代シーケンサーを用いて、PBC に特徴的に発現される血清内の短鎖遺伝子断片についてその特徴的な発現プロファイルを検討した。その結果、血清内の遊離 miRNA の内数種類で PBC と他のウイルス性肝疾患で異なる発現プロファイルを持つものを同定した。さらにこの解析法が、PBC の病態解析及び亜病型の診断にも有用である可能性が示唆され、今後はこの miRNA が他の肝線維化マーカーといかなる相関を持つか検討することが必要と思われた。

原発性胆汁性肝硬変（PBC）は原因不明の疾患で、その病因は未だ不明である。一方、近年次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現の超大量解析が進んでおり、肝疾患領域でも次世代シーケンサーを用いた解析、とりわけマイクロ RNA の報告が散見されている。マイクロ RNA（以下 miRNA）は短鎖 RNA であり、標的となる分子の発現を調整する多彩な役割を有している。肝疾患では主にウイルス性肝炎でそれぞれ発現が特徴的な miRNA の報告がなされてきた。今回、PBC の患者の血清より得られた検体を用いて、血清内の遊離 miRNA を網羅的に検討した。本年度は、特に技術的な検討を行うために、PBC と他の肝疾患と比較することにより miRNA プロファイリングによる階層的クラスタ分類が技術的に可能かということについて、少数例での端索的検討を行った。

A. 研究方法

PBC 患者の血清内遊離 miRNA のプロファイリングを検討。血清より Trizol LS を用いて Total RNA を抽出、TruSeq small RNA sample

prep kit を用いて、ライブラリーを作成し、シーケンシングを行った。疾患コントロールとして同数の慢性 B 型肝炎、同数の慢性 C 型肝炎、そして健常者からの検体を用いて検討した。ミスマッチの許容は 1% で行い、ANOVA による有意差検討で統計学的さを認めたものについてはさらに定量的 PCR 法にて発現の多少を検討した。

B. 研究結果

(1) PBC 患者血清 5 検体の血清内遊離 miRNA のプロファイリングを行い、B 型肝炎、C 型肝炎、健常者と多群比較しクラスタリング ANOVA（分散分析）で $P < 0.05$ を抽出した。P-value が計算できたものは 670 個あり、解析の結果得られたものは、110 個の miRNA。110 個の miRNA について発現パターンによるクラスタリングを行い、ヒートマップを作成したところ、PBC は一つの群を形成した。さらに定量的 PCR 法で発現を定量したところ、次世代シーケンサーで特徴的に低値であった miRNA はこの方法でも低値であることが確認

された。

- (2) 亜病型ごとの検討では、門亢症型と、肝不全型で特異的に低下する miRNA が拾い上げられ、定量的 RT-PCR でも低下が確認された。

C. 考察

血清内遊離 miRNA を解析することにより、疾患の新たな特徴を見い出せる可能性があり、発症原因の解明に迫ることができる。今後、さらに症例数を増やして PBC に特徴的な miRNA や新規 miRNA の同定を行い、さらに肝線維化マーカーとの比較を行う予定である。

D. 結論

次世代シーケンサーによる miRNA 解析は、PBC の発症に関係する miRNA の探索に有用であり、さらに、亜病型ごとに異なる発現プロファイルを有している可能性が示された。PBC の線維化マーカーの探索にも有用なツールになる可能性が示された。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mancinelli R, Franchitto A, Glaser S, Meng F, Onori P, Demorrow S, Francis H, Venter J, Carpino G, Baker K, Han Y, **Ueno Y**, Gaudio E, Alpini G. GABA induces the differentiation of small into large cholangiocytes by activation of Ca²⁺/CaMK I-dependent adenylyl cyclase 8. *Hepatology*. 2013 Jul; 58 (1):251-263.
- 2) Ninomiya M, Kondo Y, Funayama R, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, **Ueno Y**, Nakayama K,

Shimosegawa T. Distinct microRNAs expression profile in primary biliary cirrhosis and evaluation of miR 505-3p and miR197-3p as novel biomarkers. *PLoS one*. 2013 Jun; 8 (6):e66086.

- 3) Harada K, Hirohara J, **Ueno Y**, Nakano T, Kakuda Y, Tsubouchi H, Ichida T, Nakanuma Y. Incidence of and risk factors for hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: National data from Japan. *Hepatology*. 2013 May; 57 (5):1942-1949.
- 4) Renzi A, DeMorrow S, Onori P, Carpino G, Mancinelli R, Meng F, Venter J, White M, Franchitto A, Francis H, Han Y, **Ueno Y**, Dusio G, Jensen KJ, Greene JJ, Jr., Glaser S, Gaudio E, Alpini G. Modulation of the biliary expression of arylalkylamine N-acetyltransferase alters the autocrine proliferative responses of cholangiocytes in rats. *Hepatology*. 2013 Mar; 57 (3):1130-1141.
- 5) **Ueno Y**. The Current Endeavors to Understand the Pathogenesis of Intractable Liver Diseases. *Tohoku J Exp Med*. 2012 Mar; 226 (3):171-175.
- 6) Ninomiya M, **Ueno Y**, Funayama R, Nagashima T, Nishida Y, Kondo Y, Inoue J, Kakazu E, Kimura O, Nakayama K, Shimosegawa T. Use of Illumina Deep Sequencing Technology To Differentiate Hepatitis C Virus Variants. *J Clin Microbiol*. 2012 Mar; 50 (3):857-866.
- 7) Francis HL, DeMorrow S, Franchitto A, Venter JK, Mancinelli RA, MA White, Meng F, **Ueno Y**, Carpino G, Renzi A, Baker KK, Shine HE, Francis TC, Gaudio E, Alpini GD, Onori P. Histamine

stimulates the proliferation of small and large cholangiocytes by activation of both IP₃/Ca²⁺ and cAMP-dependent signaling mechanisms. *Lab Invest.* 2012 Mar; 92:282-294.

- 8) Meng F, Francis H, Glaser S, Han Y, Morrow SD, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, **Ueno Y**, Reid LM, Alpini G. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. *Hepatology.* 2012 Jan; 55 (1):209-221.
- 9) Quinn M, **Ueno Y**, Pae HY, Huang L, Frampton G, Galindo C, Francis H, Horvat D, Millin MM, Morrow SD. Suppression of the HPA axis during extrahepatic biliary obstruction induces cholangiocyte proliferation in the rat. *Ame J Physiol GI Liver.* 2012 Jan; 302 (1):182-193.
- 10) Francis HL, DeMorrow S, Franchitto A, Venter JK, Mancinelli RA, MA White, Meng F, **Ueno Y**, Carpino G, Renzi A, Baker KK, Shine HE, Francis TC, Gaudio E, Alpini GD, Onori P. Hepatic and Pancreatic Systems Histamine stimulates the proliferation of small and large cholangiocytes by activation of both IP₃/Ca²⁺ and cAMP-dependent signaling mechanisms. *Lab Invest.* 2011 Nov; 92:282-294.
- 11) Ninomiya M, **Ueno Y**, Shimosegawa T. PBC: Animal Models of Cholangiopathies and Possible Endogenous Viral Infections. *Int J Hepatol.* 2011 Jun; 2012:Article ID:649290, 6 pages.

2. 学会発表

- 1) Katsumi T, Ninomiya M, Shimosegawa T, Mizuno K, Tomita K, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, **Ueno Y**. Ability of miRNA Profiling to Distinguish the Clinical Course of Patients with Primary Biliary Cirrhosis: Comprehensive Analysis with Deep Sequencing. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington DC.
- 2) Graf A.B, Francis H.L, Hargrove L, Kennedy L, Hodges K.M, Greene J.F, **Ueno Y**. Knockout of the histidine decarboxylase (HDC) gene reduces biliary hyperplasia in cholestatic bile duct ligated (BDL) mice. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington D.C. USA.
- 3) Meng FY, Francis H, Glaser S, Han YY, DeMorrow S, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, **Ueno Y**, Reid LM, Alpini G. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Boston.
- 4) Graf A.B, Francis H.L, Hargrove L, Kennedy L, Hodges K.M, Greene J.F, **Ueno Y**. The mast cell stabilizer, cromolyn sodium, reduces bile duct ligated-induced biliary hyperplasia: a novel role for the in vivo paracrine influence of mast cells on biliary proliferation. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington D.C. USA.
- 5) Kakazu E, Kondo Y, Kogure T, Ninomiya M, Kimura O, Morosawa T, Iwata T, **Ueno Y**, Shimosegawa T. An imbalance in plasma amino acids of advanced cirrhotic

patients suppresses the maturation of dendritic cells by reducing the intracellular ATP due to interference with the mitochondrial TCA cycle.

AASLD annual meeting, November 2012. Boston. 2012.11.09-13.

- 6) Ninomiya M, Kondo Y, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Funayama R, Nagashima T, Morosawa T, Iwata T, Nakayama K, **Ueno Y**, Shimosegawa T.

Characterization of circulating microRNAs in patients with primary biliary cirrhosis by Illumina deep sequencing. AASLD annual meeting, November 2012. 2012.11.09-13. Boston.

- 7) Glaser SS, Meng FY, Venter J, White M, Francis H, **Ueno Y**, Franchitto A, Onori P,

Gaudio E, Alpini G. Increased synthesis of secretin from S cells and cholangiocytes during cholestasis increases large cholangiocyte proliferation by both paracrine/autocrine mechanisms. AASLD annual meeting, November 2012. 2012.11.09-13. Boston.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

肝硬変における新規糖鎖マーカーWFA⁺-CSF1R の臨床的有用性

田中靖人 名古屋市立大学大学院・医学研究科・教授

研究要旨：新たに開発された糖鎖マーカーWisteria floribunda agglutinin (WFA) -reactive colony-stimulating factor 1 receptor (WFA⁺-CSF1R) は肝線維化の進展とともに上昇し、代償期肝硬変患者において予後予測因子として有効であった。また WFA⁺-CSF1R 値により生存率に有意差を認めた。さらに WFA⁺/Total-CSF1R 比は、発癌予測因子として有効であった。WFA⁺-CSF1R は従来の非侵襲的な肝線維化診断法では評価できなかった、肝硬変患者の予後予測や発癌 potential の評価が可能であった。また WFA⁺-CSF1R は、先行して開発された WFA⁺- Mac-2 binding protein (M2BP) と異なったメカニズムを有していると考えられており、今後の肝疾患治療に有効と思われる。

研究協力者

飯尾悦子 名古屋市立大学大学院・医学研究科・大学院生・医師

A. 研究目的

我が国において慢性肝疾患を背景とした発癌や、肝硬変の合併症など、慢性肝疾患への対策は重要な課題である。肝線維化は発癌の重要なリスク因子であり、近年の抗ウイルス療法の進歩により C 型慢性肝疾患患者におけるウイルス排除後の発癌が将来的に問題になることが予想される。このため簡便かつ非侵襲的に線維化を評価するマーカーが必要である。C 型慢性肝疾患患者において新規血清マーカー WFA⁺-CSF1R の線維化評価及び生命予後あるいは肝発癌との関連性を検討した。また WFA⁺-M2BP との比較を行った。

B. 研究方法

1998 年 1 月～2013 年 1 月まで、名古屋市立大学病院及び関連病院通院中の C 型肝炎ウイル

ス (HCV) 感染者 207 名において、WFA⁺-CSF1R の有用性を検討した。症例内訳は chronic hepatitis (CH) : liver cirrhosis (LC) = 99:108、年齢中央値 64 (21-87) 歳、男性 52.8%、血小板 11.9 (2.9-32.7) ($\times 10^4/\text{mm}^3$)、PT 88.0 (43-136) (%)、アルブミン 4.0 (1.9-5.1) (g/dL)、AST 49 (14-534) (IU/L)、ALT 45 (6-820) (IU/L)、AFP 8.9 (1.5-9993) (ng/ml)、PIVKA-17 (6-23400) (mAU/ml) であった。平均観察期間は 51 (0-195) カ月であった。

(倫理面への配慮)

血清の保存、研究面での各種ウイルスマーカーの測定は、患者に説明し書面上で同意書を取得した上で行った。

C. 研究結果

WFA⁺-CSF1R と WFA⁺-M2BP は fibrosis stage の上昇に伴い有意に上昇し、それぞれ CH 群 82.3 (5.0-241.0) ng/ml、1.34 (0.26-13.96) (C.O.I.)、LC 群 216.9 (34.3-574.8) ng/ml、7.93 (0.52-39.26) (C.O.I.) と LC 群で有意に高値であ

った ($p < 0.001$)。また 3 例の Child - Pugh C を除いた LC 群における検討では、HCC の有無による有意差は認めなかった (WFA⁺-CSF1R [HCC 208.9 (85.4-500.9) ng/ml vs Non-HCC 214.8 (34.3-442.2) ng/ml]、WFA⁺-M2BP [HCC 6.5 (0.8-39.3) (C.O.I.) vs Non-HCC 8.9 (0.87-37.7) (C.O.I.)]}。また LC 群で、HCC なし群 (n=45) と初発 hepatocellular carcinoma (HCC) が外科的切除、または経皮的ラジオ波焼灼療法によりコントロールされた群 (n=32) とを含めた 77 名において、Time-dependent ROC 解析を用いて、生命予後と累積肝発癌に関わる因子を検討した。

(1) 生命予後の検討

アルブミン、fib4、年齢、血小板、AFP、APRI などの線維化や予後に関わる因子を加えて生存率を検討すると、WFA⁺-CSF1R は全観察期間における AUC は 0.868、HR 2.20 であり、WFA⁺-CSF1R の予後予測能力は FIB4 と同程度で、AFP や APRI より優れていた。一方でアルブミンが全観察期間における AUC が 0.883、HR 3.45 と最も良好であった。

WFA⁺-CSF1R 230ng/ml をカットオフとして Kaplan-Meier 生存曲線を検討すると WFA⁺-CSF1R < 230 ng/ml 群 [n = 43, 観察期間中央値 36M (0 - 195)]では 5 年生存率 82%であったが、WFA⁺-CSF1R ≥ 230 ng/ml 群 [n=34, 観察期間中央値 33M (0 - 108)]では 42%であった ($p = 0.0001$)。またアルブミン > 3.5 g/dl の 52 症例の検討で、WFA⁺-CSF1R ≥ 230 ng/ml 群 (n = 15) は、WFA⁺-CSF1R < 230 ng/ml 群 (n = 37) に比べ、有意に生存率が低かった ($p = 0.017$)。

(2) 肝発癌の検討

発癌予測因子を AFP、PIVKA^{-III} などの腫瘍マーカーや Fib4、APRI などの線維化 index

などと合わせて検討すると (血清中の Total CSF1R を測定し、WFA⁺/Total 比で発癌予測を検討)、WFA⁺/Total CSF1R の AUC は 0.898、HR 1.36 であり、発癌予測因子として WFA⁺/Total CSF1R が最も良好であった。つづいて WFA⁺/Total CSF1R 0.35 をカットオフとして累積発癌率を検討すると、WFA⁺/Total - CSF1R ≥ 0.35 群 (n = 8) の累積発癌率は 4 年で 70%であるのに対し、WFA⁺/Total - CSF1R < 0.35 群 (n = 69) は 4 年で 36%と、累積発癌率が有意に高かった ($p = 0.0019$)。

(3) WFA⁺-CSF1R と WFA⁺-M2BP の関連性検討

WFA⁺-M2BP と WFA⁺-CSF1R は相関係数 0.48 と良好な相関を示したが、2 例で乖離症例を認めた。1 例は WFA⁺-M2BP に比べ WFA⁺-CSF1R が極めて高値であり、もう一例は、反対に WFA⁺-M2BP に比べ WFA⁺-CSF1R が高値であったが、いずれも 29M、0M で肝不全にて死亡した。

D. 考察

WFA⁺-CSF1R は線維化の指標のみならず、発癌予測マーカーとしての可能性が示唆される。WFA⁺-CSF1R の最適なカットオフ値の決定や、発癌との関連についてはさらなる検討が必要である。WFA⁺-CSF1R と WFA⁺-M2BP との関連性、差別化のために現在、病理組織学的検討を行っている。

E. 結論

WFA⁺-CSF1R は肝硬変の診断だけでなく、予後予測が可能な線維化マーカーとして期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, **Tanaka Y**, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One*. 2014 Feb; 9 (2):e86449.
- 2) Ocho M, Togayachi A, Iio E, Kaji H, Kuno A, Sogabe M, Korenaga M, Gotoh M, **Tanaka Y**, Ikehara Y, Mizokami M, Narimatsu H. Application of a glycoproteomics-based biomarker development method: alteration in glycan structure on colony stimulating factor 1 receptor as a possible glycobiomarker candidate for evaluation of liver cirrhosis. *J Proteome Res*. 2014 Jan; 13 (3):1428-1437.
- 3) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsushashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, **Tanaka Y**, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014 Jan; 59 (1):89-97.
- 4) Akkarathamrongsin S, Hacharoen P, Tangkijvanich P, Theamboonlers A, **Tanaka Y**, Mizokami M, Poovorawan Y. Molecular epidemiology and genetic history of hepatitis C virus subtype 3a infection in Thailand. *Intervirology*. 2013 Sep; 56 (5):284-294.
- 5) Kaji H, Ocho M, Togayachi A, Kuno A, Sogabe M, Ohkura T, Nozaki H, Angata T, Chiba Y, Ozaki H, Hirabayashi J, **Tanaka Y**, Mizokami M, Ikehara Y, Narimatsu H. Glycoproteomic Discovery of Serological Biomarker Candidates for HCV/HBV Infection-Associated Liver Fibrosis and Hepatocellular Carcinoma. *J Proteome Res*. 2013 Jun; 12 (6):2630-2640.
- 6) Kurosaki M, **Tanaka Y**, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Tokunaga K, Mizokami M, Izumi N. Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 2013 Mar; 85 (3):449-458.
- 7) Kuno A, Ikehara Y, **Tanaka Y**, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, Hige S, Sakamoto M, Kage M, Mizokami M, Narimatsu H. A serum "sweet-doughnut" protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral

- hepatitis. *Sci Rep.* 2013 Jan; 3:1065 (Article number).
- 8) Du D, Zhu X, Kuno A, Matsuda A, Tsuruno C, Yu D, Zhang Y, Ikehara Y, **Tanaka Y**, Zhang X, Narimatsu H. Comparison of LecT-Hepa and FibroScan for assessment of liver fibrosis in hepatitis B virus infected patients with different ALT levels. *Clin Chim Acta.* 2012 Nov; 413 (21-22):1796-1799.
 - 9) Watanabe T, Sugauchi F, **Tanaka Y**, Matsuura K, Yatsushashi H, Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, Mizokami M. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon-alpha in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut.* 2012 Nov; 62 (9):1340-1646.
 - 10) Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, **Tanaka Y**, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, Narimatsu H, Mizokami M. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology.* 2012 Oct; 56 (4):1448-1456.
 - 11) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, **Tanaka Y**, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean. *PLoS One.* 2012 Jun; 7 (6).
 - 12) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, **Tanaka Y**, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet.* 2012 Jun; 13 (47).
 - 13) Wang J, Singh US, Rawal RK, Sugiyama M, Yoo J, Jha AK, Scroggin M, Huang Z, Murray MG, Govindarajan R, **Tanaka Y**, Korba B, Chu CK. Antiviral activity of novel 2'-fluoro-6'-methylene-carbocyclic adenosine against wild-type and drug-resistant hepatitis B virus mutants. *Bioorg MedChem Lett.* 2012 Apr; 22 (7):2641.
 - 14) Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, **Tanaka Y**, Shinkai N, Hige S, Yatsushashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after

- discontinuation of nucleos (t) ide analogs in patient with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.* 2012 Feb; 42 (2):139-149.
- 15) Miyaaki H, Ichikawa T, Yatsushashi H, Taura N, Miuma S, Usui T, Mori S, Kamihira S, **Tanaka Y**, Mizokami M, Nakao K. Suppressor of cytokine signal 3 and IL28 genetic variation predict the viral response to peginterferon and ribavirin. *Hepatol Res.* 2011 Dec; 41 (12):1216-1222.
- 16) Sugiyama M, **Tanaka Y**, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. *PLoS One.* 2011 Oct; 6 (10):e26620.
- 17) Nakamura I, **Tanaka Y**, Ochiai K, Moriyasu F, Mizokami M, Imawari M. Clarification of interspousal hepatitis C virus infection in acute hepatitis C patients by molecular evolutionary analyses: Consideration on sexual and non-sexual transmission between spouses. *Hepatol Res.* 2011 Sep; 41 (9):838-845.
- 18) Kuno A, Ikehara Y, **Tanaka Y**, Saito K, Ito K, Tsuruno C, Nagai S, Takahama Y, Mizokami M, Hirabayashi J, Narimatsu H. LecT-Hepa: A triplex lectin-antibody sandwich immuneassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis assisted by a bedside clinical chemistry analyzer and an automated pretreatment machine. *Clin Chim Acta.* 2011 Sep; 412 (19-20):1767-1772.
- 19) **Tanaka Y**, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet.* 2011 Sep; 20 (17):3507-3516.
- 20) Sa-Nguanmoo P, **Tanaka Y**, Ratanakorn P, Sugiyama M, Murakami S, Payungporn S, Sommanustweechai A, Mizokami M, Poovorawan Y. Cross-species transmission of gibbon and orangutan hepatitis B virus to uPA/SCID mice with human hepatocytes. *Virus Res.* 2011 Jun; 158 (1-2):209-215.
- 21) Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, Hino K, Yatsushashi H, Orito E, Kani S, **Tanaka Y**, Mizokami M. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 2011 May; 49 (5):1853-1860.
- 22) Matsuura K, **Tanaka Y**, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B

responders: Randomized controlled trial. Hepatol Res. 2011 Jun; 41 (6):505-511.

- 23) Kurosaki M, **Tanaka Y**, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Matsuura K, Sugauchi F, Enomoto N, Nishida N, Tokunaga K, Mizokami M, Izumi N. Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. Antivir Ther. 2011 May; 16:685-694.
- 24) Tatematsu K, **Tanaka Y**, Sugiyama M, Sudoh M, Mizokami M. Host sphingolipid biosynthesis is a promising therapeutic target for the inhibition of hepatitis B virus replication. J Med Virol. 2011 Apr; 83 (4):587-593.

2. 学会発表

- 1) Iio E, **Tanaka Y**, Watanabe T, Ikehara Y, Ocho M, Togayachi A, Kuno A, Gotoh M, Joh T, Mizokami M, Narimatsu H. A new liver fibrosis marker WFA⁺-H1-12 is useful for an evaluation of the prognosis in liver cirrhosis patients. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2013.11.01-05. Washington, DC.
- 2) 久野 敦、池原 譲、**田中 靖人**、溝上 雅史、成松 久. 新規糖タンパク質マーカーを用

いた肝線維化迅速評価系の開発. 第39回日本肝臓学会西部会. 2011.12.09. 岡山.

- 3) 伊藤 清顕、久野 敦、池原 譲、**田中 靖人**、成松 久、溝上 雅史. EVALUATION OF NEW GLYCO-MARKER USING MULTIPLE LECTINS AS PREDICTOR OF LIVER FIBROSIS IN CHRONIC LIVER DISEASES PATIENTS. The Liver Meeting 2011. 2011.11.04. サンフランシスコ.
- 4) 久野 敦、池原 譲、**田中 靖人**、伊藤 清顕、溝上 雅史、平林 淳、成松 久. LecT-Hepa: a triplex lectin-antibody sandwich automated immunoassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis. The Liver Meeting 2011. 2011.11.04. サンフランシスコ.
- 5) 久野 敦、池原 譲、**田中 靖人**、溝上 雅史、成松 久. Clinical implementation of a fibrosis-related glycoprotein biomarker. JHUPPO サテライトシンポジウム. 2011.07.30. 新潟.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

肝発癌例と非発癌例での血中 WFA⁺-M2BP と WFA⁺-CSF1R の検討

- 発癌 3 年前の血清マーカーからの検討 -

熊田 卓 大垣市民病院・副院長

研究要旨：2000 年 1 月から 2009 年 12 月の間に経験した B 型肝炎ウイルス (HBV) キャリアもしくは C 型肝炎ウイルス (HCV) キャリア 2750 例中、3 年以上経過観察されかつ血清保存された 1110 例で経過観察中に 83 例の肝細胞癌 (HCC) が発生した。この発癌例の 83 例と非発生例の 1027 例で年齢、性、成因 (HBV もしくは HCV)、Child-Pugh 分類、血小板、alanine aminotransferase (ALT) の 6 因子を propensity score 法でマッチさせて発癌例 79 例、非発癌例 79 を抽出した。これらの症例で HCC 診断時 (非発癌例では最終血清保存日)、1 年前、2 年前、3 年前の保存血清で *Wisteria floribunda* agglutinin-reactive 90 K/Mac-2 binding protein (WFA⁺-M2BP) と WFA⁺-colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R)、 α -fetoprotein (AFP)、lens culinaris agglutinin A-reactive α -fetoprotein (AFP-L3%)、DCP (des-gamma-carboxy prothrombin)、FIB4 index、AST-to-platelet ratio index (APRI) を測定した。HCC 診断前 3 年前の血清で ROC (Receiver Operatorating Characteristic) 曲線を作成すると AUC (Area under the curve) は WFA⁺-CSF1R (0.7250) で最も高く、次いで AFP (0.6599)、FIB4 index (0.6192)、WFA⁺-M2BP (0.6057)、APRI (0.5905)、AFP-L3% (0.5685)、DCP (0.4903) の順であった。WFA⁺-CSF1R 及び WFA⁺-M2BP は経過観察を行った 3 年間の経時的変化認められなかったが、経過観察開始時 (3 年前) で高値を示す症例は肝発癌の可能性が高く、特に WFA⁺-CSF1R は高発癌状態の良いマーカーとなりうる可能性が示された。

研究協力者

豊田秀徳 大垣市民病院・消化器科・医長
多田俊史 大垣市民病院・消化器科・医長

A. 研究目的

肝細胞癌 (HCC) 診断に腫瘍マーカーとして、 α -fetoprotein (AFP)、lens culinaris agglutinin A-reactive α -fetoprotein (AFP-L3%) および DCP (des-gamma-carboxy

prothrombin あるいは protein induced vitamin K absence- : PIVKA) の 3 種類が良く用いられている。2009 年 4 月からは AFP と DCP の 2 つの腫瘍マーカーの同時測定が保険診療上認められ、肝癌診療ガイドライン (2009 年版) にも、対象者を高危険群 (B 型慢性肝炎、C 型慢性肝炎、肝硬変) と超高危険群 (B 型肝硬変、C 型肝硬変) に分け、前者では 6 ヶ月に一度の超音波検査と腫瘍マーカー (AFP と AFP-L3% と DCP) の測定を、後者では 3-4 ヶ月毎の超音

波検査と腫瘍マーカーの測定に加え6-12ヶ月毎のCT/MRI検査 (Option) が推奨されている。

一方、HCCは線維化の進行した例から発生しやすいことが知られており、線維化を正確に、非侵襲的に測定する方法が求められている。今回我々は線維化マーカーとして開発された血清中の90 K/Mac-2 binding protein (M2BP) 及びmacrophage colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) を測定する機会を得て、保存血清を用いて肝発癌例、非発癌例で *Wisteria floribunda* agglutinin-reactive (WFA+) - M2BP 及び WFA+-CSF1R を測定し、その臨床的意義について検討した。

B. 研究方法

B型肝炎ウイルス (HBV) キャリアもしくはC型肝炎ウイルス (HCV) キャリア 2750 例中、(1) HBs 抗原もしくはHCV抗体が6カ月以上陽性、(2) HCC 診断前3年以上経過観察されている、(3) 血清が12カ月の間隔で少なくとも2点以上で保存されている、(4) 発癌例では最大腫瘍径3cm以下3個以下で診断されている、(5) ワーファリンが内服していない5点を満たす1110例を対象とした。経過観察中に83例で発癌が認められた。

この発癌83例と非発癌1027例を年齢、性、成因 (HBVもしくはHCV)、Child-Pugh分類、血小板、alanine aminotransferase (ALT) の5因子を propensity score 法を用いてマッチさせたところ、発癌群79例、非発癌群79例が抽出された。これらの症例でHCC診断時 (非発癌例では最終血清保存日)、1年前、2年前、3年前の保存血清でWFA+-M2BP、WFA+-CSF1R、AFP、高感度AFP-L3% (μ TAS Wako i30)、DCPを測定した。また、3年前の血液データから $FiB-4 = [年齢 (y) \times AST (IU/L) / [血小板 (10^9/L) \times ALT (IU/L)^{1/2}]$ 、AST-to-platelet ratio index (APRI) = $[AST (IU/L) / ALT_{ULN}$

(IU/L)] $\times 100 / [platelet count (10^9/L)]$ も測定した。

C. 研究結果

(1) 背景因子

表1、発癌群と非発癌群の背景因子 (3年前)

	Characteristics	HCC (n=79)	Non-HCC (n=79)	P
Age	Median (Range)	67 (34-84)	67 (14-84)	0.692
Gender	Male / Female	49 / 30	45 / 34	0.517
Etiology	B / C / B+C	13/65/1	11/67/1	0.906
Child-Pugh classification	A / B / C	63/13/3	67/10/2	0.699
ALT (IU/L)	Median (Range)	49 (7-361)	49 (12-321)	0.900
Platelet ($\times 10^9/mL$)	Median (Range)	99 (32-340)	122 (21-414)	0.124
Presence of cirrhosis	Present/Absent	63/16	64/15	0.8412
WFA+-CSF1R (ng/mL)	Median (Range)	224.6 (33.1-785.8)	135.2 (52.7-638.0)	<0.001
WFA+-M2BP (ng/mL)	Median (Range)	6.92 (0.48-26.29)	3.67 (0.2-31.46)	0.0135
AFP (ng/mL)	Median (Range)	11 (0.8-627.1)	5.7 (0.8-1131.4)	<0.001
AFP-L3 (%)	Median (Range)	5.0 (0.00-11.6)	4.2 (0.5-10.3)	0.1446
DCP (mAU/mL)	Median (Range)	15 (5-304)	14 (5-324)	0.6735
Tumor size (cm)	Median (Range)	1.8 (1.0-3.0)	NA	NA
Tumor number	Single / Multiple	53/26	NA	NA
TNM stage	I / II / III	36/30/13	NA	NA

表1に経過観察開始時 (3年前) の発癌群79例と非発癌群79例の背景因子を示す。年齢、性、成因、Child-Pugh分類、ALT、血小板に差は認めていない。HCC診断時の最大径は1.8cm (1.0-3.0cm)、単発53例、多発26例、stageはIが36例、IIが30例、IIIが13例であった。WFA+-CSF1Rは発癌群では非発癌群に比し有意に高値であった ($P < 0.001$)。一方、WFA+-M2BPも有意に高値であった ($P = 0.0135$)。

(2) AFPの経時的変化

AFPは発癌1年前までの変化は乏しく、診断時に上昇する例が多く (図1)、診断時には1年前に比し有意の上昇を認めた ($P < 0.0001$ 、表2)。

図1、AFPの変化

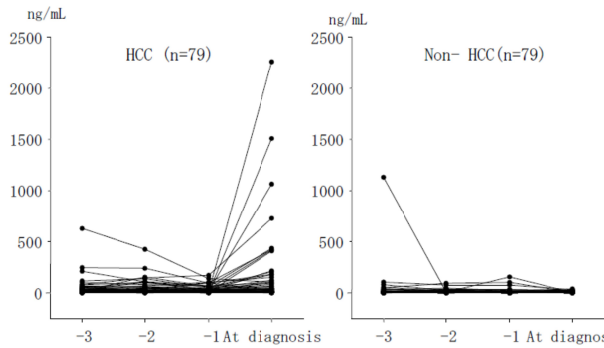


表2、各種マーカーの変化

Biomarker	3年前と2年前	2年前と1年前	1年前と診断時
WFA ⁺ -CSF1R	P=0.1208	P=0.4709	P=0.5933
WFA ⁺ -M2BP	P=0.0703	P=0.9606	P=0.7519
AFP	P=0.9315	P=0.1811	P=0.0006
AFP-L3%	P=0.7475	P=0.0009	P<0.0001
DCP	P=0.1542	P=0.7519	P<0.0001

(Wilcoxon paired rank sum test)

(3) AFP-L3%の経時的変化

AFP-L3%は診断1年前および診断時に上昇する症例を多く認めた(図2)。診断1年前と2年前および診断1年前と診断時の変化が有意であった(P=0.0009 および<0.0001、表2)。

(4) DCPの経時的変化

DCPは発癌1年前までの変化は乏しく、診断時に上昇する例が多く(図1)、診断時には1年前に比し有意の上昇を認めた(P<0.0001、表2)。

(5) WFA⁺-M2BPの経時的変化

WFA⁺-M2BPは癌発見時の値を含め3年前、2年前1年前の変化は認められなかった(図4、表2)。

(6) WFA⁺-CSF1Rの経時的変化

WFA⁺-CSF1Rも同様に、癌発見時の値を含め3年前、2年前1年前の変化は認められなかった(図5、表2)。

(7) 発癌3年前の各種マーカーのROC曲線

3年前の各種マーカーのAUCを求めると

WFA⁺-CSF1Rが0.7250(0.6246-0.8069)で最も高く、次いでAFP 0.6626

(0.5700-0.7442)、FIB-4 index 0.6192

(0.5234-0.7066)、WFA⁺-M2BP 6050

(0.5015-0.6936)、APRI 0.5905

(0.4957-0.6791)、AFP-L3% 0.5685

(0.4755-0.6568)、DCP 0.4903

(0.3970-0.5844)の順であった。WFA⁺-CSF1R

のAUCはFIB-4 index、WFA⁺-M2BP、APRI、AFP-L3%、DCPに比し有意に高値であった。

また、AFPのAUCはAFP-L3%、DCPに比し有意に高値であった。

図2、AFP-L3%の変化

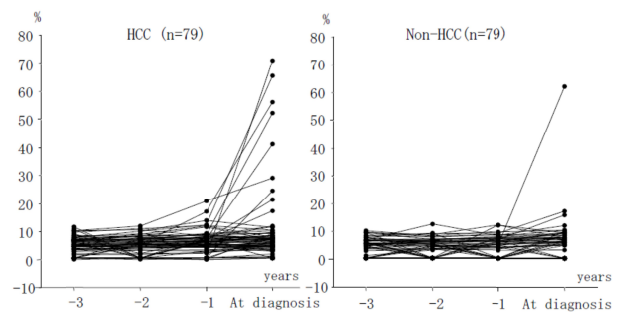


図3、DCPの変化

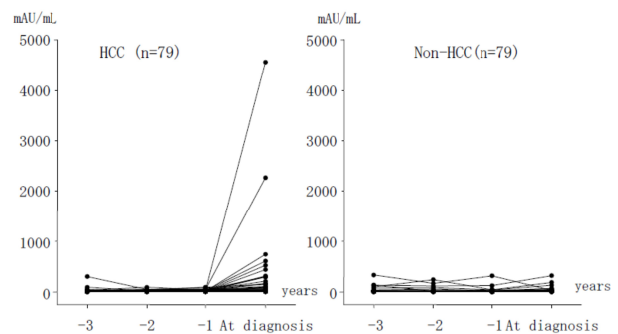


図4、WFA⁺-M2BPの変化

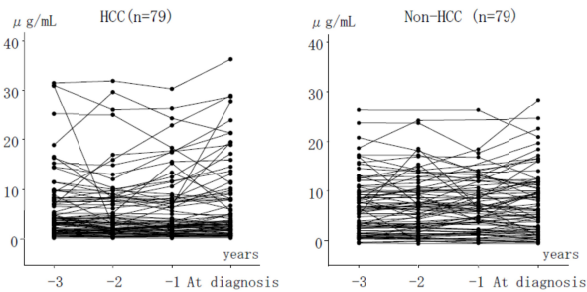


図5、WFA⁺-CSF1Rの変化

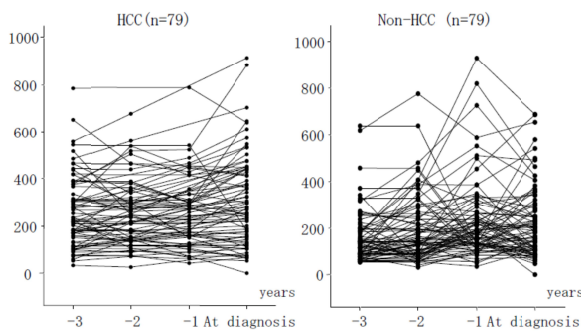


図6、各種マーカーのAUC(3年前)

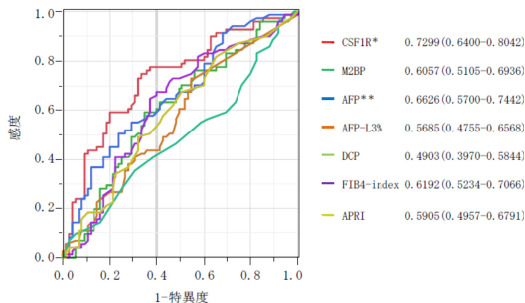


表4 HCCを疑いMRIのきっかけとなった理由と高感度AFP-L3分画

Triggers to perform MRI	n	hs-AFP-L3 >7%	
		at -1 year	at diagnosis
(a) Ultrasound	86	29.6%	36.0%
Increase of the tumor number	51	27.7%	39.2%
Increase of the tumor size	18	16.7%	11.1%
Change of the echo pattern in nodules	17	50.0%	52.9%
(b) Biomarkers	5	80.0%	60.0%
(c) Others	13	46.2%	53.8%

D. 結論

背景因子を合わせた肝発癌群 79 例と非発癌群 79 例の WFA⁺-CSF1R、WFA⁺-M2BP、AFP、

高感度 AFP-L3%、DCP、FIB-4 index、APRI を測定し発癌予測の AUC は有用性について検討した。

(1) WFA⁺-CSF1R は発癌群で 3 年前から高値を示していた。一方、WFA⁺-M2BP も発癌群で 3 年前から高値を示していたが WFA⁺-CSF1R ほど顕著ではなかった。

(2) WFA⁺-CSF1R は発癌前 3 年前の ROC 曲線の AUC で 0.7250 (0.6246-0.8069) と最も高値を示し次いで AFP、FIB-4 index、WFA⁺-M2BP で、WFA⁺-CSF1R は高発癌状態の一つの指標となる可能性が示された。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tada T, **Kumada T**, Toyoda H, Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Kitabatake S, Niinomi T, Ito T, Hasegawa R, Ando Y, Yamamoto K, Tanaka T. Oral supplementation with branched-chain amino acid granules prevents hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C-related cirrhosis: A propensity score analysis. *Hepatol Res.* 2014 Mar; 44 (3):288-295.
- 2) **Kumada T**, Toyoda H, Tada T, Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tanaka J, Kagebayashi C, Satomura S. High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* 2014 Mar; 49 (3):555-563.
- 3) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Murakami Y. Impact of hepatitis B virus integration

- into liver tissue on the efficacy of peginterferon and ribavirin therapy in hepatitis b virus-negative chronic hepatitis C patients. *J Clin Gastroenterol.* 2014 Jan; 48 (1):73-79.
- 4) Shimada N, Toyoda H, Tsubota A, Ide T, Takaguchi K, Kato K, Kondoh M, Matsuyama K, **Kumada T**, Sata M. Baseline factors and very early viral response (week 1) for predicting sustained virological response in telaprevir-based triple combination therapy for Japanese genotype 1b chronic hepatitis C patients: a multicenter study. *J Gastroenterol.* 2013 Nov; In press.
 - 5) Matsushima-Nishiwaki R, **Kumada T**, Nagasawa T, Suzuki M, Yasuda E, Okuda S, Maeda A, Kaneoka Y, Toyoda H, Kozawa O. Direct Association of Heat Shock Protein 20 (HSPB6) with Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in Human Hepatocellular Carcinoma: Regulation of the PI3K Activity. *PLoS One.* 2013 Nov; 8 (11):e78440.
 - 6) Toyoda H, **Kumada T**, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Kitabatake S, Murakami Y. Association between hepatic steatosis and hepatic expression of genes involved in innate immunity in patients with chronic hepatitis C. *Cytokine.* 2013 Aug; 63 (2):145-150.
 - 7) Toyoda H, **Kumada T**. Extended treatment duration overcomes the requirement for profound week-4 interferon responsiveness in order for hepatitis C genotype 1 patients with unfavorable IL-28B genotype to achieve sustained virologic response. *J Clin Virol.* 2013 Aug; 57 (4):381.
 - 8) Sato A, Sata M, Ikeda K, **Kumada T**, Izumi N, Asahina Y, Osaki Y, Chayama K, Kaneko S, Sakai A, Onji M, Hiasa Y, Omura T, Ozeki I, Yokosuka O, Shiina S, Itsubo M, Nishiguchi S, Hirano K, Ide T, Sakisaka S, Yamasaki T, Hidaka I, Tanaka M, Kim SR, Ichida T. Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan. *Intern Med.* 2013 Jul; 52 (24):2701-2706.
 - 9) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Niinomi T, Ito T, Sone Y, Kaneoka Y, Maeda A. Non-hypervascular hypointense nodules detected by Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI are a risk factor for recurrence of HCC after hepatectomy. *J Hepatol.* 2013 Jun; 58 (6):1174-1180.
 - 10) Arao T, Ueshima K, Matsumoto K, Nagai T, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Haji S, Kanazawa A, Hidaka H, Iso Y, Kubota K, Shimada M, Utsunomiya T, Hirooka M, Hiasa Y, Toyoki Y, Hakamada K, Yasui K, **Kumada T**, Toyoda H, Sato S, Hisai H, Kuzuya T, Tsuchiya K, Izumi N, Arii S, Nishio K, Kudo M. FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2013 Apr; 57 (4):1407-1415.
 - 11) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T. Lower incidence of hepatocellular carcinoma in patients with transient virologic response to peginterferon and ribavirin combination therapy: Is it really the

- effect of the therapy? *J Hepatol.* 2013 Apr; 58 (4):838-839.
- 12) **Kumada T**, Toyoda H, Tada T, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Niinomi T, Yasuda S, Andou Y, Yamamoto K, Tanaka J. Effect of nucleos(t) ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: A propensity score analysis. *J Hepatol.* 2013 Mar; 58 (3):427-433.
 - 13) Murakami Y, Tamori A, Itami S, Tanahashi T, Toyoda H, Tanaka M, Wu W, Brojigin N, Kaneoka Y, Maeda A, **Kumada T**, Kawada N, Kubo S, Kuroda M. The expression level of miR-18b in hepatocellular carcinoma is associated with the grade of malignancy and prognosis. *BMC Cancer.* 2013 Mar; 13:99.
 - 14) Izumi N, Asahina Y, Kurosaki M, Yamada G, Kawai T, Kajiwara E, Okamura Y, Takeuchi T, Yokosuka O, Kariyama K, Toyoda J, Inao M, Tanaka E, Moriwaki H, Adachi H, Katsushima S, Kudo M, Takaguchi K, Hiasa Y, Chayama K, Yatsushashi H, Oketani M, Kumada H. Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFN α -2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study. *J Gastroenterol.* 2013 Mar; 48 (3):382-390.
 - 15) **Kumada T**, Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J. Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Feb; 28 (2):357-364.
 - 16) Honda T, Katano Y, Kuzuya T, Hayashi K, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Toyoda H, **Kumada T**, Yamamoto K, Matsushita T, Kojima T, Takamatsu J, Goto H. Comparison of the efficacy of ribavirin plus peginterferon alfa-2b for chronic hepatitis C infection in patients with and without coagulation disorders. *J Med Virol.* 2013 Feb; 85 (2):228-234.
 - 17) Toyoda H, **Kumada T**, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Murakami Y. Higher hepatic gene expression and serum levels of matrix metalloproteinase-2 are associated with steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver diseases. *Biomarkers.* 2013 Feb; 18 (1):82-87.
 - 18) Toyoda H, **Kumada T**, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Murakami Y. Higher hepatic gene expression and serum levels of matrix metalloproteinase-2 are associated with steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver diseases. *Biomarkers.* 2013 Feb; 18 (1):82-87.
 - 19) Toyoda H, **Kumada T**, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Baseline factors and early viral response (week 4) to antiviral therapy with peginterferon and ribavirin for predicting sustained virologic response in patients infected with hepatitis C virus genotype 1: A multicenter study. *J Med Virol.* 2013 Jan; 85 (1):65-70.
 - 20) Hayashi K, Katano Y, Masuda H, Ishizu Y, Kuzuya T, Honda T, Ishigami M, Itoh

- A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, **Kumada T**, Goto H. Pegylated interferon monotherapy in patients with chronic hepatitis C with low viremia and its relationship to mutations in the NS5A region and the single nucleotide polymorphism of interleukin-28B. *Hepatol Res.* 2013 Jan; 43 (6):580-588.
- 21) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A. Placement of a Sodium Hyaluronate Solution onto the Liver Surface as a Supportive Procedure for Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinomas Located on the Liver Surface: A Preliminary Report. *J Vasc Interv Radiol.* 2012 Dec; 23 (12):1639-1645.
- 22) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Niinomi T, Ito T, Kaneoka Y, Maeda A. Prognostic significance of a combination of pre- and post-treatment tumor markers for hepatocellular carcinoma curatively treated with hepatectomy. *J Hepatol.* 2012 Dec; 57 (6):1251-1257.
- 23) Toyoda H, **Kumada T**, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Significance of a reduction in HCV RNA levels at 4 and 12 weeks in patients infected with HCV genotype 1b for the prediction of the outcome of combination therapy with peginterferon and ribavirin. *BMC Infect Dis.* 2012 Nov; 12 (1):324.
- 24) Toyoda H, **Kumada T**, Katano Y, Goto H. Week 4 viral response to peginterferon and ribavirin: How should it be used in combination with a baseline predictive factor? *J Hepatol.* 2012 Oct; 57 (4):927-928.
- 25) Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, **Kumada T**, Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Taguchi Y-h. Comprehensive miRNA Expression Analysis in Peripheral Blood Can Diagnose Liver Disease. *PLoS One.* 2012 Oct; 7 (10):e48366.
- 26) Toyoda H, **Kumada T**. Incidence of hepatocellular carcinoma and response to interferon therapy in HCV-infected patients: effect of factors associated with the therapeutic response and incidence of HCC. *Liver Int.* 2012 Jul; 32 (6):1029-1031.
- 27) Toyoda H, **Kumada T**, Osaki Y, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A. Novel method to measure serum levels of des-gamma-carboxy prothrombin for hepatocellular carcinoma in patients taking warfarin: A preliminary report. *Cancer Sci.* 2012 May; 103 (5):921-925.
- 28) Toyoda H, **Kumada T**. Favorable association between genetic polymorphisms near the IL28B gene and hepatic steatosis: Direct or indirect? *J Hepatol.* 2012 Mar; 56 (3):738-739.
- 29) Hayashi K, Katano Y, Kuzuya T, Tachi Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, **Kumada T**, Goto H. Prevalence of hepatitis C virus genotype 1a in Japan and correlation of mutations in the NS5A region and single-nucleotide polymorphism of interleukin-28B with the response to combination therapy with pegylated-interferon-alpha 2b and

- ribavirin. *J Med Virol.* 2012 Mar; 84 (3):438-444.
- 30) Kanke F, **Kumada T**, Toyoda H, Satomura S. Reference change values for lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem Lab Med.* 2012 Mar; 50 (5):957-960.
- 31) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Sone Y, Fujimori M. Transarterial Chemoembolization for Hepatitis B Virus-associated Hepatocellular Carcinoma: Improved Survival after Concomitant Treatment with Nucleoside Analogues. *J Vasc Interv Radiol.* 2012 Mar; 23 (3):317-322.
- 32) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Predictive value of early viral dynamics during peginterferon and ribavirin combination therapy based on genetic polymorphisms near the IL28B gene in patients infected with HCV genotype 1b. *J Med Virol.* 2012 Jan; 84 (1):61-70.
- 33) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Sone Y, Kaneoka Y, Maeda A. Characteristics and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after the year 2000 in Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Dec; 26 (12):1765-1771.
- 34) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T. Highly sensitive Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein (hs-AFP-L3): a new tool for the management of hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 2011 Dec; 81 (Suppl 1):S61-65.
- 35) Matsushima-Nishiwaki R, Adachi S, Yoshioka T, Yasuda E, Yamagishi Y, Matsuura J, Muko M, Iwamura R, Noda T, Toyoda H, Kaneoka Y, Okano Y, **Kumada T**, Kozawa O. Suppression by heat shock protein 20 of hepatocellular carcinoma cell proliferation via inhibition of the mitogen-activated protein kinases and AKT pathways. *J Cell Biochem.* 2011 Nov; 112 (11):3430-3439.
- 36) Toyoda H, **Kumada T**, Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T. Markedly lower follow-up rate after liver biopsy in patients with non-alcoholic fatty liver diseases than those with viral hepatitis in Japan. *BMC Res Note.* 2011 Sep; 4:341.
- 37) Hayashi K, Katano Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Toyoda H, **Kumada T**, Goto H. Association of interleukin 28B and mutations in the core and NS5A region of hepatitis C virus with response to peg-interferon and ribavirin therapy. *Liver Int.* 2011 Sep; 31 (9):1359-1365.
- 38) Toyoda H, **Kumada T**, Kaneoka Y, Maeda A. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are associated with post-operative recurrence and survival of patients with HCV genotype 1b-associated hepatocellular carcinoma. *Ann Surg.* 2011 Aug; 254 (2):326-332.
- 39) **Kumada T**, Toyoda H, Arakawa T, Sone Y, Fujimori M, Ogawa S, Ishikawa T. Evolution of Hypointense Hepatocellular Nodules Observed Only in the Hepatobiliary Phase of Gadoxetate

Disodium-Enhanced MRI. Am J Roentgenol. 2011 Jul; 197:58-63.

- 40) Toyoda H, **Kumada T**, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Antiviral combination therapy with peginterferon and ribavirin does not induce a therapeutically resistant mutation in the HCV core region regardless of genetic polymorphism near the IL28B gene. J Med Virol. 2011 Jul; 83 (9):1559-1564.
- 41) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A, Kanke F, Satomura S. Clinical utility of highly sensitive Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma patients with alpha-fetoprotein <20 ng/mL. Cancer Sci. 2011 May; 102 (5):1025-1031.
- 42) Toyoda H, **Kumada T**, Tada T, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Impact of genetic polymorphisms near the IL28B gene and amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region on interferon sensitivity/resistance in patients with chronic hepatitis C. J Med Virol. 2011 Jul; 83 (7):1203-1211.
- 43) Onomoto K, Morimoto S, Kawaguchi T, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Uno K, **Kumada T**, Matsuda F, Shimotohno K, Fujita T, Murakami Y. Dysregulation of IFN System Can Lead to Poor Response to Pegylated Interferon and Ribavirin Therapy in Chronic Hepatitis C. PLoS ONE. 2011 May; 6 (5):e19799.
- 44) Toyoda H, **Kumada T**, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A,

Tada T, Arakawa T, Fujimori M, Niinomi T, Ando N, Yasuda S, Sakai K, Kimura J. High ability to predict the treatment outcome of peginterferon and ribavirin combination therapy based on the reduction in HCV RNA levels at 4 weeks after starting therapy and amino acid substitutions in hepatitis C virus in patients infected with HCV genotype 1b. J Gastroenterol. 2011 Apr; 46 (4):501-509.

- 45) **Kumada T**, Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J, Yoshizawa H. Predictive value of tumor markers for hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C virus. J Gastroenterol. 2011 Apr; 46 (4):536-544.

2. 学会発表

- 1) **熊田 卓**. 肝細胞癌発生の最近の動向. 第24回肝臓フォーラム<東部>. シンポジウム:肝細胞癌の診断、治療、予防の最前線. (2011 巻:26-34) 2011.06.18. 東京.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
		泉 並木	肝臓病診療ゴールデンハンドブック 改訂第2版.	南江堂	東京	2012 Oct	
		泉 並木 (監修).	よくわかる最新医学 肝臓病の最新治療.	主婦の友社	東京	2012 Jul	
泉 並木	第2章 C型慢性肝炎「Q23. ペグインターフェロン・リバビリン併用治療効果を予測する方法はありますか?」、 「Q25.新しい抗C型肝炎治療薬はどのようなものがありますか?」	泉 並木 、黒崎 雅之・編	すべての内科医に役立つ 肝疾患なるほど Q&A.	羊土社	東京	2011 Jun	83-87

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Khudayberganova D, Sugiyama M, Masaki N, Nishida N, Mukaide M, Sekler D, Latipov R, Nataliya K, Dildora S,	IL28B Polymorphisms and Clinical Implications for Hepatitis C Virus Infection in Uzbekistan.	PLoS One.	9 (3)	e9301 1	2014 Mar

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sharapov S, Usmanova G, Raxmanov M, Musabaev E, Mizokami M.					
Toshima T, Shirabe K , Ikegami T, Yoshizumi T, Kuno A, Togayachi A , Gotoh M, Narimatsu H, Korenaga M, Mizokami M , Nishie A, Aishima S, Maehara Y.	A novel serum marker, glycosylated Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA ⁺ -M2BP), for assessing liver fibrosis.	J Gastroenterol.	In press.		2014 Mar
Tada T, Kumada T , Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Kitabatake S, Niinomi T, Ito T, Hasegawa R, Ando Y, Yamamoto K, Tanaka T.	Oral supplementation with branched-chain amino acid granules prevents hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C-related cirrhosis: A propensity score analysis.	Hepatol Res.	44 (3)	288-295	2014 Mar
Kumada T , Toyoda H, Tada T, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tanaka J, Kagebayashi C, Satomura S.	High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma.	J Gastroenterol.	49 (3)	555-563	2014 Mar
Chuma M, Sakamoto N, Nakai A, Hige S , Nakanishi M, Natsuizaka M, Suda G, Sho T, Hatanaka K, Matsuno Y, Yokoo H, Kamiyama T, Taketomi A , Fujii G, Tashiro K, Hikiba Y, Fujimoto M, Asaka M, Maeda S.	Heat shock factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor B/mitogen-activated protein kinase.	Carcinogenesis.	35 (2)	272-281	2014 Feb

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y , Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N , Kang JH, Hige S , Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K , Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M , Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M .	New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia.	PLoS One.	9 (2)	e8644 9	2014 Feb
Hino K , Hara Y, Nishina S.	Mitochondrial reactive oxygen species as a mystery voice in hepatitis C.	Hepato Res.	44 (2)	123-132	2014 Feb
Genda T, Ichida T , Sakisaka S, Sata M, Tanaka E, Inui A, Egawa H, Umeshita K, Furukawa H, Kawasaki S, Inomata Y.	Waiting list mortality of patients with primary biliary cirrhosis in the Japanese transplant allocation system.	J Gastroenterol.	49 (2)	324-331	2014 Feb
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Murakami Y.	Impact of hepatitis B virus integration into liver tissue on the efficacy of peginterferon and	J Clin Gastroenterol.	48 (1)	73-79	2014 Jan

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	ribavirin therapy in hepatitis b virus-negative chronic hepatitis C patients.				
Fukuda K, Imai Y , Hiramatsu N, Irishio K, Igura T, Sawai Y, Kogita S, Makino Y, Mizumoto R, Matsumoto Y, Nakahara M, Zushi S, Kajiwara N, Oze T, Kawata S, Hayashi N, Takehara T.	Renal impairment during the treatment of telaprevir with peginterferon and ribavirin in patients with chronic hepatitis C.	Hepatol Res.	In press.		2014 Jan
Ocho M, Togayachi A , Iio E, Kaji H , Kuno A , Sogabe M, Korenaga M , Gotoh M, Tanaka Y , Ikehara Y, Mizokami M , Narimatsu H .	Application of a glycoproteomics-based biomarker development method: alteration in glycan structure on colony stimulating factor 1 receptor as a possible glycobiomarker candidate for evaluation of liver cirrhosis.	J Proteome Res.	13 (3)	1428-1437	2014 Jan
Murata K, Sugiyama M, Kimura T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K , Korenaga M , Imamura M, Masaki N, Mizokami M .	Ex vivo induction of IFN-lambda3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/Ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients.	J Gastroenterol.	49 (1)	126-137	2014 Jan
Tan B, Matsuda A, Zhang Y, Kuno A , Narimatsu H .	Multilectin-assisted fractionation for improved single-dot tissue glycome profiling in clinical glycoproteomics.	Mol Biosyst.	10 (2):	201-205	2013 Dec
Korenaga K, Korenaga M , Teramoto F, Suzuki	Clinical usefulness of non-protein respiratory quotient	Hepatol Res.	43 (12)	1284-1294	2013 Dec

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
T, Nishina S, Sasaki K, Nakashima Y, Tomiyama Y, Yoshioka N, Hara Y, Moriya T, Hino K.	measurement in non-alcoholic fatty liver disease.				
Ito K , Yotsuyanagi H, Yatsuhashi H , Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T , Toyoda H, Yoneda M , Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y , Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M.	Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults.	Hepatology.	59 (1)	89-97	2014 Jan
Narita Y, Genda T, Tsuzura H, Sato S, Kanemitsu Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Hirano K, Iijima K, Wada R, Ichida T.	Prediction of liver stiffness for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients on interferon-based anti-viral therapy.	J Gastroenterol Hepatol.	29 (1)	137-143	2014 Jan
Inoue T, Hyodo T, Murakami T, Takayama Y, Nishie A, Higaki A, Korenaga K, Sakamoto A, Osaki Y, Aikata H, Chayama K, Suda T, Takano T, Miyoshi K, Koda M, Numata K, Tanaka H, Iijima H, Ochi H, Hirooka M, Imai Y , Kudo M.	Hypovascular Hepatic Nodules Showing Hypointense on the Hepatobiliary-Phase Image of Gd-EOB-DTPA-Enhanced MRI to Develop a Hypervascular Hepatocellular Carcinoma: A Nationwide Retrospective Study on Their Natural Course and Risk Factors.	Dig Dis.	31 (5-6)	472-479	2013 Nov

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sasaki M, Kondo F, Sawai Y, Imai Y , Kadowaki S, Sano K, Fukusato T, Matsui O, Nakanuma Y.	Serum amyloid A-positive hepatocellular neoplasms in the resected livers from 3 patients with alcoholic cirrhosis.	Histol Histopathol.	28 (11)	1499-1505	2013 Nov
Makino Y, Imai Y , Igura T, Kogita S, Sawai Y, Fukuda K, Hori M, Kudo M, Murakami T.	Usefulness of the Extracted-Overlay Function in CT/MR-Ultrasonography Fusion Imaging for Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinoma.	Dig Dis.	31 (5-6)	485-489	2013 Nov
Shimada N, Toyoda H, Tsubota A, Ide T, Takaguchi K, Kato K, Kondoh M, Matsuyama K, Kumada T , Sata M.	Baseline factors and very early viral response (week 1) for predicting sustained virological response in telaprevir-based triple combination therapy for Japanese genotype 1b chronic hepatitis C patients: a multicenter study.	J Gastroenterol.	In press.		2013 Nov
Hino K , Nishina S, Hara Y.	Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: mechanisms and relevance to hepatocarcinogenesis.	J Gastroenterol Hepatol.	28 (Suppl 4)	93-98	2013 Nov
Matsushima-Nishiwaki R, Kumada T , Nagasawa T, Suzuki M, Yasuda E, Okuda S, Maeda A, Kaneoka Y, Toyoda H, Kozawa O.	Direct Association of Heat Shock Protein 20 (HSPB6) with Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in Human Hepatocellular Carcinoma: Regulation of the PI3K Activity.	PLoS One.	8 (11)	e78440	2013 Nov
Kuno A , Sato T , Shimazaki H, Unno S, Saitou K, Kiyohara K, Sogabe M, Tsuruno C, Takahama Y, Ikehara Y, Narimatsu H .	Reconstruction of a robust glycodiagnostic agent supported by multiple lectin-assisted glycan profiling.	PROTEOMICS Clin Appl.	7 (9-10)	642-647	2013 Oct

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomiyama Y, Nishina S, Hara Y, Kawase T, Hino K.	Hepatic oxidative stress in ovariectomized transgenic mice expressing the hepatitis C virus polyprotein is augmented through suppression of AMPK/PGC-1alpha signaling.	Hepatol Res.	In press.		2013 Oct
Yotsuyanagi H, Ito K , Yamada N, Takahashi H, Okuse C, Yasuda K, Suzuki M, Moriya K, Mizokami M , Miyakawa Y, Koike K.	High levels of hepatitis B virus after the onset of disease lead to chronic infection in patients with acute hepatitis B.	Clin Infect Dis.	57 (7)	935-942	2013 Oct
Akkarathamrongsin S, Hacharoen P, Tangkijvanich P, Theamboonlers A, Tanaka Y, Mizokami M , Poovorawan Y.	Molecular epidemiology and genetic history of hepatitis C virus subtype 3a infection in Thailand.	Intervirol.	56 (5)	284-294	2013 Sep
Makino Y, Imai Y , Igura T, Hori M, Fukuda K, Sawai Y, Kogita S, Ohama H, Matsumoto Y, Nakahara M, Zushi S, Kurokawa M, Isotani K, Takamura M, Fujita N, Murakami T.	Utility of computed tomography fusion imaging for the evaluation of the ablative margin of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma and the correlation to local tumor progression.	Hepatol Res.	43 (9)	950-958	2013 Sep
Toyoda H, Kumada T , Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Kitabatake S, Murakami Y.	Association between hepatic steatosis and hepatic expression of genes involved in innate immunity in patients with chronic hepatitis C.	Cytokine.	63 (2)	145-150.	2013 Aug
Toyoda H, Kumada T.	Extended treatment duration overcomes the requirement for profound week-4 interferon	J Clin Virol.	57 (4)	381	2013 Aug

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	responsiveness in order for hepatitis C genotype 1 patients with unfavorable IL-28B genotype to achieve sustained virologic response.				
Morita S, Matsumoto A , Umemura T, Shibata S, Kamiyo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E.	Characteristics and prediction of hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B.	Hepatol Res.	In press.		2013 Aug
Morita S, Matsumoto A , Umemura T, Shibata S, Kamiyo N, Ichikawa Y, Kimura T, Joshita S, Komatsu M, Yoshizawa K, Tanaka E.	Characteristics and prediction of hepatitis B e-antigen negative hepatitis following seroconversion in patients with chronic hepatitis B.	Hepatol Res.	In press.		2013 Aug
Nakamura M, Nakashima H, Tsutsumi K, Matsumoto H, Muta Y, Ueno D, Yoshida K, Hino K , Urakami A, Tanaka M.	First jejunal vein oriented mesenteric excision for pancreatoduodenectomy.	J Gastroenterol.	48 (8)	989-995	2013 Aug
Ohama H, Imai Y , Nakashima O, Kogita S, Takamura M, Hori M, Seki Y, Sawai Y, Igura T, Fukuda K, Makino Y, Morimoto O, Ohsawa M, Sakamoto M , Murakami T.	Images of Sonazoid-enhanced ultrasonography in multistep hepatocarcinogenesis: comparison with Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI.	J Gastroenterol.	In press.		2013 Aug
Osaki Y, Ikeda K, Izumi N , Yamashita S, Kumada H, Hatta S, Okita K.	Clinical effectiveness of bipolar radiofrequency ablation for small liver cancers.	J Gastroenterol.	48 (7)	874-883	2013 Jul

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takemura T, Yoshida Y, Kiso S, Kizu T, Furuta K, Ezaki H, Hamano M, Egawa M, Chatani N, Kamada Y, Imai Y , Higashiyama S, Iwamoto R, Mekada E, Takehara T.	Conditional loss of heparin-binding EGF-like growth factor results in enhanced liver fibrosis after bile duct ligation in mice.	Biochem Biophys Res Commun.	437 (2)	185-191	2013 Jul
Komatsu M, Tanaka N, Shibata SI, Kimura T, Ichikawa Y, Morita S, Joshita S, Nagaya T, Umemura T, Ichijo T, Matsumoto A , Yoshizawa K, Tanaka E.	Laparoscopic findings of congenital hepatic fibrosis: A case report and review of the published work.	Hepatology Res.	In press.		2013 Jul
Tomiyama Y, Takenaka K, Kodama T, Kawanaka M, Sasaki K, Nishina S, Yoshioka N, Hara Y, Hino K .	Risk factors for survival and the development of hepatocellular carcinoma in patients with primary biliary cirrhosis.	Intern Med.	52 (14)	1553-1559	2013 Jul
Sato A, Sata M, Ikeda K, Kumada T , Izumi N , Asahina Y, Osaki Y, Chayama K, Kaneko S, Sakai A, Onji M, Hiasa Y, Omura T, Ozeki I, Yokosuka O, Shiina S, Itsubo M, Nishiguchi S, Hirano K, Ide T, Sakisaka S, Yamasaki T, Hidaka I, Tanaka M, Kim SR, Ichida T .	Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan.	Intern Med.	52 (24)	2701-2706	2013 Jul
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Niinomi T, Ito T, Sone Y, Kaneoka Y,	Non-hypervascular hypointense nodules detected by Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI	J Hepatol.	58 (6)	1174-1180	2013 Jun

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Maeda A.	are a risk factor for recurrence of HCC after hepatectomy.				
Miyake T, Abe M , Tokumoto Y, Hirooka M, Furukawa S, Kumagi T, Hamada M, Kawasaki K, Tada F, Ueda T, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M.	B cell-activating factor is associated with the histological severity of nonalcoholic fatty liver disease.	Hepatol Int.	7 (2)	539-547	2013 Jun
Ikeda K, Izumi N , Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Kumada H.	Fibrosis score consisting of four serum markers successfully predicts pathological fibrotic stages of chronic hepatitis B.	Hepatol Res.	43 (6)	596-604	2013 Jun
Mancinelli R, Franchitto A, Glaser S, Meng F, Onori P, Demorrow S, Francis H, Venter J, Carpino G, Baker K, Han Y, Ueno Y , Gaudio E, Alpini G.	GABA induces the differentiation of small into large cholangiocytes by activation of Ca (2+) /CaMK I-dependent adenylyl cyclase 8.	Hepatology.	58 (1)	251-263	2013 Jul
Abe T, Hashiguchi A, Yamazaki K, Ebinuma H, Saito H, Kumada H, Izumi N , Masaki N, Sakamoto M .	Quantification of collagen and elastic fibers using whole-slide images of liver biopsy specimens.	Pathol Int.	63 (6)	305-310	2013 Jun
Ninomiya M, Kondo Y, Funayama R, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Ueno Y , Nakayama K, Shimosegawa T.	Distinct microRNAs expression profile in primary biliary cirrhosis and evaluation of miR 505-3p and miR197-3p as novel biomarkers.	PloS one.	8 (6)	e66086	2013 Jun
Kaji H , Ocho M, Togayachi A , Kuno A , Sogabe M, Ohkura T,	Glycoproteomic Discovery of Serological Biomarker Candidates for HCV/HBV	J Proteome Res.	12 (6)	2630-2640	2013 Jun

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nozaki H, Angata T, Chiba Y, Ozaki H, Hirabayashi J, Tanaka Y, Mizokami M, Ikehara Y, Narimatsu H.	Infection-Associated Liver Fibrosis and Hepatocellular Carcinoma.				
Higashitani K, Kanto T, Kuroda S, Yoshio S, Matsubara T, Kakita N, Oze T, Miyazaki M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Mita E, Imai Y , Kasahara A, Okuno A, Takikawa O, Hayashi N, Takehara T.	Association of enhanced activity of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells with the induction of regulatory T cells in chronic hepatitis C infection.	J Gastroenterol.	48 (5)	660-670	2013 May
Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Izumi N, Ichida T , Kudo M, Ku Y, Sakamoto M , Nakashima O, Matsui O, Matsuyama Y.	Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: A cohort study based on a Japanese nationwide survey.	J Hepatol.	58 (4)	724-729	2013 Apr
Arao T, Ueshima K, Matsumoto K, Nagai T, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Haji S, Kanazawa A, Hidaka H, Iso Y, Kubota K, Shimada M, Utsunomiya T, Hirooka M, Hiasa Y, Toyoki Y, Hakamada K, Yasui K, Kumada T , Toyoda H, Sato S, Hisai H, Kuzuya T, Tsuchiya K, Izumi N , Arii S, Nishio	FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma.	Hepatology.	57 (4)	1407-1415	2013 Apr

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
K, Kudo M.					
Harada N, Hiramatsu N, Oze T, Yamada R, Kurokawa M, Miyazaki M, Yakushijin T, Miyagi T, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Imai Y , Inoue A, Hayashi N, Takehara T.	Incidence of hepatocellular carcinoma in HCV-infected patients with normal alanine aminotransferase levels categorized by Japanese treatment guidelines.	J Gastroenterol.	48 (4)	535-543	2013 Apr
Toyoda H, Kumada T , Tada T.	Lower incidence of hepatocellular carcinoma in patients with transient virologic response to peginterferon and ribavirin combination therapy: Is it really the effect of the therapy?	J Hepatol.	58 (4)	838-839	2013 Apr
Yoshio S, Kanto T, Kuroda S, Matsubara T, Higashitani K, Kakita N, Ishida H, Hiramatsu N, Nagano H, Sugiyama M, Murata K, Fukuhara T, Matsuura Y, Hayashi N, Mizokami M , Takehara T.	Human blood dendritic cell antigen 3 (BDCA3) (+dendritic cells are a potent producer of interferon-lambda in response to hepatitis C virus.	Hepatology.	57 (5)	1705-1715	2013 May
Harada K, Hirohara J, Ueno Y , Nakano T, Kakuda Y, Tsubouchi H, Ichida T , Nakanuma Y.	Incidence of and risk factors for hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: National data from Japan.	Hepatology.	57 (5)	1942-1949	2013 May

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kumada T , Toyoda H, Tada T, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Niinomi T, Yasuda S, Andou Y, Yamamoto K, Tanaka J.	Effect of nucleos (t) ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: A propensity score analysis.	J Hepatol.	58 (3)	427-433	2013 Mar
Kurosaki M, Tanaka Y , Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M , Maekawa S, Tokunaga K, Mizokami M , Izumi N .	Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C.	J Med Virol.	85 (3)	449-458	2013 Mar
Kikuchi T, Hirano K, Genda T, Tsuzura H, Sato S, Kanemitsu Y, Iijima K, Ichida T .	A study of the effects of the saliva stimulation by nizatidine on dry mouth symptoms of primary biliary cirrhosis.	World J Hepatol.	5 (3)	90-96	2013 Mar
Takeji S, Hirooka M, Koizumi Y, Tokumoto Y, Abe M , Ikeda Y, Nadano S, Hiasa Y, Onji M.	Des-gamma-carboxy prothrombin identified by P-11 and P-16 antibodies reflects prognosis for patients with hepatocellular carcinoma.	J Gastroenterol Hepatol.	28 (4)	671-677	2013 Apr
Murakami Y, Tamori A, Itami S, Tanahashi T, Toyoda H, Tanaka M, Wu W, Brojigin N, Kaneoka Y, Maeda A, Kumada T , Kawada N, Kubo S, Kuroda M.	The expression level of miR-18b in hepatocellular carcinoma is associated with the grade of malignancy and prognosis.	BMC Cancer.	13	99	2013 Mar
Kawanaka M, Nishino K, Nakamura J, Suehiro M, Goto D, Urata N, Oka T,	Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with vitamins E and C: a pilot study.	Hepatic Med Evi Res.	5	11-16	2013 Mar

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawamoto H, Nakamura H, Yodoi J, Hino K , Yamada G.					
Tada F, Abe M , Kawasaki K, Miyake T, Chen S, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M.	B cell activating factor in obesity is regulated by oxidative stress in adipocytes.	Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition.	52 (2)	120-127	2013 Mar
Miyake T, Kumagi T, Hirooka M, Furukawa S, Koizumi M, Tokumoto Y, Ueda T, Yamamoto S, Abe M , Kitai K, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M.	Body mass index is the most useful predictive factor for the onset of nonalcoholic fatty liver disease: a community-based retrospective longitudinal cohort study.	J Gastroenterol.	48 (3)	413-422	2013 Mar
Izumi N , Asahina Y, Kurosaki M, Yamada G, Kawai T, Kajiwara E, Okamura Y, Takeuchi T, Yokosuka O, Kariyama K, Toyoda J, Inao M, Tanaka E, Moriwaki H, Adachi H, Katsushima S, Kudo M, Takaguchi K, Hiasa Y, Chayama K, Yatsushashi H , Oketani M, Kumada H.	Inhibition of hepatocellular carcinoma by PegIFN-2a in patients with chronic hepatitis C: a nationwide multicenter cooperative study.	J Gastroenterol.	48 (3)	382-390	2013 Mar
Kumada T , Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J.	Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients.	J Gastroenterol Hepatol.	28 (2)	357-364	2013 Feb
Honda T, Katano Y, Kuzuya T, Hayashi K, Ishigami M, Itoh A,	Comparison of the efficacy of ribavirin plus peginterferon alfa-2b for chronic hepatitis C	J Med Virol.	85 (2)	228-234	2013 Feb

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Toyoda H, Kumada T , Yamamoto K, Matsushita T, Kojima T, Takamatsu J, Goto H.	infection in patients with and without coagulation disorders.				
Hyodo T, Murakami T, Imai Y , Okada M, Hori M, Kagawa Y, Kogita S, Kumano S, Kudo M, Mochizuki T.	Hypovascular Nodules in Patients with Chronic Liver Disease: Risk Factors for Development of Hypervascular Hepatocellular Carcinoma.	Radiology.	266 (2)	480-49 0	2013 Feb
Kudo M, Matsui O, Sakamoto M , Kitao A, Kim T, Ariizumi S, Ichikawa T, Kobayashi S, Imai Y , Izumi N , Fujinaga Y, Arie S.	Role of Gadolinium-Ethoxybenzyl-Diethylenetriamine Pentaacetic Acid-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in the Management of Hepatocellular Carcinoma: Consensus at the Symposium of the 48th Annual Meeting of the Liver Cancer Study Group of Japan.	Oncology.	84 (Suppl 1)	21-27	2013 Feb
Makino Y, Imai Y , Ohama H, Igura T, Kogita S, Sawai Y, Fukuda K, Takamura M, Ohashi H, Murakami T.	Ultrasonography Fusion Imaging System Increases the Chance of Radiofrequency Ablation for Hepatocellular Carcinoma with Poor Conspicuity on Conventional Ultrasonography.	Oncology.	84 (suppl 1)	44-50	2013 Feb
Toyoda H, Kumada T , Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Murakami Y.	Higher hepatic gene expression and serum levels of matrix metalloproteinase-2 are associated with steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver diseases.	Biomarkers.	18 (1)	82-87	2013 Feb
Toyoda H, Kumada T , Kiriya S, Tanikawa	Higher hepatic gene expression and serum levels of matrix	Biomarkers.	18 (1)	82-87	2013 Feb

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Murakami Y.	metalloproteinase-2 are associated with steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver diseases.				
Renzi A, DeMorrow S, Onori P, Carpino G, Mancinelli R, Meng F, Venter J, White M, Franchitto A, Francis H, Han Y, Ueno Y , Dusio G, Jensen KJ, Greene JJ, Jr., Glaser S, Gaudio E, Alpini G.	Modulation of the biliary expression of arylalkylamine N-acetyltransferase alters the autocrine proliferative responses of cholangiocytes in rats.	Hepatology.	57 (3)	1130-1 141	2013 Mar
Fukuma M, Tanese K, Effendi K, Yamazaki K, Masugi Y, Suda M, Sakamoto M.	Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 regulates epithelial cell phenotype and survival of hepatocellular carcinoma cells.	Exp Cell Res.	319 (3)	113-12 1	2013 Feb
Oze T, Hiramatsu N, Mita E, Akuta N, Sakamoto N, Nagano H, Itoh Y, Kaneko S, Izumi N , Nomura H, Hayashi N, Takehara T.	A multicenter survey of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan.	Hepatology Res.	43 (1)	35-43	2013 Jan
Toyoda H, Kumada T , Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N.	Baseline factors and early viral response (week 4) to antiviral therapy with peginterferon and ribavirin for predicting sustained virologic response in patients infected with hepatitis C virus genotype 1: A multicenter study.	J Med Virol.	85 (1)	65-70	2013 Jan
Tamaki N, Kurosaki M, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T,	Noninvasive estimation of fibrosis progression overtime using the FIB-4 index in chronic hepatitis C.	J Viral Hepat.	20 (1)	72-76	2013 Jan

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Asahina Y, Izumi N.					
Hayashi K, Katano Y, Masuda H, Ishizu Y, Kuzuya T, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T , Goto H.	Pegylated interferon monotherapy in patients with chronic hepatitis C with low viremia and its relationship to mutations in the NS5A region and the single nucleotide polymorphism of interleukin-28B.	Hepatol Res.	43 (6)	580-58 8	2013 Jan
Kuno A , Ikehara Y, Tanaka Y , Ito K , Matsuda A, Sekiya S, Hige S , Sakamoto M , Kage M, Mizokami M , Narimatsu H.	A serum “sweet-doughnut” protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis.	Sci Rep.	3	1065 (Article number)	2013 Jan
Kasawaki K, Abe M , Tada F, Tokumoto Y, Chen S, Miyake T, Furukawa S, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M.	Blockade of B-cell-activating factor signaling enhances hepatic steatosis induced by a high-fat diet and improves insulin sensitivity.	Laboratory Investigation.	93	311-32 1	2013 Mar
Effendi K, Yamazaki K, Mori T, Masugi Y, Makino S, Sakamoto M.	Involvement of hepatocellular carcinoma biomarker, cyclase-associated protein 2 in zebrafish body development and cancer progression.	Exp Cell Res.	319 (1)	35-44	2013 Jan
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Kaneoka Y, Maeda A.	Placement of a Sodium Hyaluronate Solution onto the Liver Surface as a Supportive Procedure for Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinomas Located on the Liver Surface: A Preliminary Report.	J Vasc Interv Radiol.	23 (12)	1639-1 645	2012 Dec
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Niinomi T, Ito	Prognostic significance of a combination of pre- and	J Hepatol.	57 (6)	1251-1 257	2012 Dec

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
T, Kaneoka Y, Maeda A.	post-treatment tumor markers for hepatocellular carcinoma curatively treated with hepatectomy.				
Ueda T, Tsuchiya K, Hashimoto S, Inoue T, Enomoto N, Inao M, Tanaka A, Kaito M, Imazeki F, Nishiguchi S, Mochida S, Yokosuka O, Yatsuhashi H, Izumi N , Kudo M.	Retreatment with Peginterferon -2a + Ribavirin in Patients Who Failed Previous Peginterferon -2b + Ribavirin Combination Therapy.	Dig Dis.	30 (6)	554-560	2012 Dec
Makino Y, Imai Y , Igura T, Ohama H, Kogita S, Sawai Y, Fukuda K, Ohashi H, Murakami T.	Usefulness of the Multimodality Fusion Imaging for the Diagnosis and Treatment of Hepatocellular Carcinoma.	Dig Dis.	30 (6)	580-587	2012 Dec
Toyoda H, Kumada T , Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N .	Significance of a reduction in HCV RNA levels at 4 and 12 weeks in patients infected with HCV genotype 1b for the prediction of the outcome of combination therapy with peginterferon and ribavirin.	BMC Infect Dis.	12 (1)	324	2012 Nov
Du D, Zhu X, Kuno A , Matsuda A, Tsuruno C, Yu D, Zhang Y, Ikehara Y, Tanaka Y , Zhang X, Narimatsu H .	Comparison of LecT-Hepa and FibroScan for assessment of liver fibrosis in hepatitis B virus infected patients with different ALT levels.	Clin Chim Acta.	413 (21-22)	1796-1799	2012 Nov
Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y , Matsuura K, Yatsuhashi H , Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, Mizokami	Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon-alpha in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene.	Gut.	62 (9)	1340-1346	2012 Nov

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
M.					
Taura N, Ichikawa T, Miyaaki , Kadokawa Y, Tsutsumi T, Tsuruta S, Kato Y, Inoue O, Kinoshita N, Ohba K, Kato H, Ohata K, Masuda J, Hamasaki K, Yatsuhashi H , Nakao K.	Baseline Serum Cholesterol Is Associated with a Response to Pegylated Interferon Alfa-2b and Ribavirin Therapy for Chronic Hepatitis C Genotype 2.	Gastroenterol Res Pract.	2012	Article ID:317580, 7 pages	2012 Nov
Kobayashi T, Hige S , Terashita K, Nakai M, Horimoto H, Sho T, Nakanishi M, Ogawa K, Chuma M, Sakamoto N, Asaka M.	Anemia and thrombocytosis induced by ribavirin monotherapy in patients with chronic hepatitis C.	J Gastroenterol.	47 (11)	1228-1237	2012 Nov
Saito H, Ito K , Sugiyama M, Matsui T, Aoki Y, Imamura M, Murata K, Masaki N, Nomura H, Adachi H, Hige S , Enomoto N, Sakamoto N, Kurosaki M, Mizokami M , Watanabe S.	Factors responsible for the discrepancy between IL28B polymorphism prediction and the viral response to peginterferon plus ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients.	Hepatol Res.	42 (10)	958-965	2012 Oct
Ito K , Kuno A , Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M , Murata K, Masaki N, Tanaka Y , Hige S , Izumi N , Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M , Kage M, Narimatsu H , Mizokami M .	LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients.	Hepatology.	56 (4)	1448-1456	2012 Oct

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Toyoda H, Kumada T , Katano Y, Goto H.	Week 4 viral response to peginterferon and ribavirin: How should it be used in combination with a baseline predictive factor?	J Hepatol.	57 (4)	927-92 8	2012 Oct
Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, Kumada T , Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Taguchi Y-h.	Comprehensive miRNA Expression Analysis in Peripheral Blood Can Diagnose Liver Disease.	PLoS One.	7 (10)	e4836 6	2012 Oct
Matsui T, Motoki Y, Inomoto T, Miura D, Kato Y, Suenaga H, Hino K , Nojima J.	Temperature-Related Effects of Adenosine Triphosphate-Activated Microglia on Pro-Inflammatory Factors.	Neurocrit Care.	17 (2)	293-30 0	2012 Oct
Matsumoto A , Tanaka E, Morita S, Yoshizawa K, Umemura T, Joshita S.	Changes in the serum level of hepatitis B virus (HBV) surface antigen over the natural course of HBV infection.	J Gastroenter ol.	47 (9)	1006-1 013	2012 Sep
Akiba T, Hora K, Imawari M, Sato C, Tanaka E, Izumi N , Harada T, Ando R, Kikuchi K, Tomo T, Hirakata H, Akizawa T.	2011 Japanese Society for Dialysis Therapy Guidelines for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection in Dialysis Patients.	Ther Apher Dial.	16 (4)	289-31 0	2012 Aug
Kudo M, Tateishi R, Yamashita T, Ikeda M, Furuse K, Ikeda K, Kokudo N, Izumi N , Matsui O.	Current Status of Hepatocellular Carcinoma Treatment in Japan.	Clin Drug Investig.	32 (Supp 1 2)	37-51	2012 Aug
Hino K , Nishina S, Hara Y.	Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: insights from recent evidence.	Clin J Gastroenter ol.	5 (4)	251-25 6	2012 Aug
Toyoda H, Kumada T .	Incidence of hepatocellular carcinoma and response to interferon therapy in HCV-infected patients: effect of	Liver Int.	32 (6)	1029-1 031	2012 Jul

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	factors associated with the therapeutic response and incidence of HCC.				
Katsube T, Okada M, Kumano S, Imaoka I, Kagawa Y, Hori M, Ishii K, Tanigawa N, Imai Y , Kudo M, Murakami T.	Estimation of liver function using T2* mapping on gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic acid enhanced magnetic resonance imaging.	Eur J Radiol.	81 (7)	1460-1464	2012 Jul
Yoshizawa K, Matsumoto A , Ichijo T, Umemura T, Joshita S, Komatsu M, Tanaka N, Tanaka E, Ota M, Katsuyama Y, Kiyosawa K, Abe M , Onji M.	Long-term outcome of Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis.	Hepatology.	56 (2)	668-676	2012 Aug
Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S , Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M , Hino K , Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N , Han KH, Tanaka Y , Tokunaga K, Mizokami M .	Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean.	PLoS One.	7 (6)		2012 Jun

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S , Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N , Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K , Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K , Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M , Tokunaga K.	No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations.	BMC Med Genet.	13 (47)		2012 Jun
Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y , Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F, Okanoue T.	Genetic Polymorphisms of the Human PNPLA3 Gene Are Strongly Associated with Severity of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Japanese.	PLoS One.	7 (6)	e38322	2012 Jun
Fukuda K, Kogita S, Tsuchimoto Y, Sawai Y, Igura T, Ohama H, Makino Y, Matsumoto Y, Nakahara M, Zushi S, Imai Y .	Overlap syndrome of autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis complicated with hepatocellular carcinoma.	Clin J Gastroenterol.	5 (3)	183-188	2012 Jun

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Toyoda H, Kumada T , Osaki Y, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A.	Novel method to measure serum levels of des-gamma-carboxy prothrombin for hepatocellular carcinoma in patients taking warfarin: A preliminary report.	Cancer Sci.	103 (5)	921-925	2012 May
Tamada Y, Yatsubashi H , Masaki N, Nakamuta M, Mita E, Komatsu T, Watanabe Y, Muro T, Shimada M, Hijioka T, Satoh T, Mano Y, Komeda T, Takahashi M, Kohno H, Ota H, Hayashi S, Miyakawa Y, Abiru S, Ishibashi H.	Hepatitis B virus strains of subgenotype A2 with an identical sequence spreading rapidly from the capital region to all over Japan in patients with acute hepatitis B.	Gut.	61 (5)	765-773	2012 May
Kurokawa M, Hiramatsu N, Oze T, Yakushijin T, Miyazaki M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Iio S, Doi Y, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Mochizuki K, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y , Hayashi E, Hayashi N, Takehara T.	Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection.	J Gastroenterol.	47 (5)	577-585	2012 May
Wang J, Singh US, Rawal RK, Sugiyama M, Yoo J, Jha AK, Scroggin M, Huang Z, Murray	Antiviral activity of novel 2'-fluoro-6'-methylene-carbocyclic adenosine against wild-type and drug-resistant hepatitis B virus	Bioorg MedChem Lett.	22 (7)	2641	2012 Apr

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
MG, Govindarajan R, Tanaka Y , Korba B, Chu CK.	mutants.				
Onishi H, Kim T, Imai Y , Hori M, Nagano H, Nakaya Y, Tsuboyama T, Nakamoto A, Tatsumi M, Kumano S, Okada M, Takamura M, Wakasa K, Tomiyama N, Murakami T.	Hypervascular hepatocellular carcinomas: detection with gadoxetate disodium-enhanced MR imaging and multiphasic multidetector CT.	Eur Radiol.	22 (4)	845-854	2012 Apr
Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M , Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Izumi N .	Data mining model using simple and readily available factors could identify patients at high risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C.	J Hepatol.	56 (3)	602-608	2012 Mar
Toyoda H, Kumada T .	Favorable association between genetic polymorphisms near the IL28B gene and hepatic steatosis: Direct or indirect?	J Hepatol.	56 (3)	738-739	2012 Mar
Izumi N .	Prediction and prevention of intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma.	Hepatol Res.	42 (3)	226-232	2012 Mar
Hayashi K, Katano Y, Kuzuya T, Tachi Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T , Goto H.	Prevalence of hepatitis C virus genotype 1a in Japan and correlation of mutations in the NS5A region and single-nucleotide polymorphism of interleukin-28B with the response to combination therapy with pegylated-interferon- alpha 2b and ribavirin.	J Med Virol.	84 (3)	438-444	2012 Mar
Kanke F, Kumada T , Toyoda H, Satomura S.	Reference change values for lens culinaris agglutinin-reactive	Clin Chem Lab Med.	50 (5)	957-960	2012 Mar

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	-fetoprotein and des- -carboxy prothrombin in patients with chronic hepatitis C.				
Ueno Y.	The Current Endeavors to Understand the Pathogenesis of Intractable Liver Diseases.	Tohoku J Exp Med.	226 (3)	171-175	2012 Mar
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Sone Y, Fujimori M.	Transarterial Chemoembolization for Hepatitis B Virus-associated Hepatocellular Carcinoma: Improved Survival after Concomitant Treatment with Nucleoside Analogues.	J Vasc Interv Radiol.	23 (3)	317-322	2012 Mar
Ninomiya M, Ueno Y , Funayama R, Nagashima T, Nishida Y, Kondo Y, Inoue J, Kakazu E, Kimura O, Nakayama K, Shimosegawa T.	Use of Illumina Deep Sequencing Technology To Differentiate Hepatitis C Virus Variants.	J Clin Microbiol.	50 (3)	857-866	2012 Mar
Joshita S, Umemura T, Katsuyama Y, Ichikawa Y, Kimura T, Morita S, Kamijo A, Komatsu M, Ichijo T, Matsumoto A , Yoshizawa K, Kamijo N, Ota M, Tanaka E.	Association of IL28B gene polymorphism with development of hepatocellular carcinoma in Japanese patients with chronic hepatitis C virus infection.	Hum Immunol.	73 (3)	298-300	2012 Mar
Francis HL, DeMorrow S, Franchitto A, Venter JK, Mancinelli RA, MA White, Meng F, Ueno Y , Carpino G, Renzi A, Baker KK, Shine HE, Francis TC, Gaudio E, Alpini GD, Onori P.	Histamine stimulates the proliferation of small and large cholangiocytes by activation of both IP3/Ca ²⁺ and cAMP-dependent signaling mechanisms.	Lab Invest.	92	282-294	2012 Mar

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tsuzura H, Genda T, Sato S, Hirano K, Kanemitsu Y, Narita Y, Kikuchi T, Iijima K, Wada R, Ichida T.	Association of visceral obesity with high viral load and histological finding in elderly patients with genotype 1 chronic hepatitis C.	Intern Med.	52 (15)	1665-1 673	2012 Mar
Oze T, Hiramatsu N, Song C, Yakushijin T, Iio S, Doi Y, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Hijioka T, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Hayashi E, Kato M, Miyazaki M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Hayashi N, Takehara T.	Reducing Peg-IFN doses causes later virologic response or no response in HCV genotype 1 patients treated with Peg-IFN alfa-2b plus ribavirin.	J Gastroenterol.	47 (3)	334-34 2	2012 Mar
Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, Tanaka Y, Shinkai N, Hige S, Yatsubashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H.	Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos (t) ide analogs in patient with chronic hepatitis B.	Hepatol Res.	42 (2)	139-14 9	2012 Feb
Motomura T, Koga E, Taketomi A, Fukuhara T, Mano Y, Muto J, Konishi H, Toshima T, Uchiyama H, Yoshizumi T, Shirabe	Efficacy of splenectomy in preventing anemia in patients with recurrent hepatitis C following liver transplantation is not dependent on inosine triphosphate pyrophosphatase	Hepatol Res.	42 (3)	288-29 5	2012 Mar

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
K , Maehara Y.	genotype.				
Asahina Y, Tsuchiya K, Muraoka M, Tanaka K, Suzuki Y, Tamaki N, Hoshioka Y, Yasui Y, Katoh T, Hosokawa T, Ueda K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Kurosaki M, Enomoto N, Nitta S, Sakamoto N, Izumi N .	Association of gene expression involving innate immunity and genetic variation in interleukin 28B with antiviral response.	Hepatology.	55 (1)	20-29	2012 Jan
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F.	Predictive value of early viral dynamics during peginterferon and ribavirin combination therapy based on genetic polymorphisms near the IL28B gene in patients infected with HCV genotype 1b.	J Med Virol.	84 (1)	61-70	2012 Jan
Meng F, Francis H, Glaser S, Han Y, Morrow SD, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, Ueno Y , Reid LM, Alpini G.	Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration.	Hepatology.	55 (1)	209-221	2012 Jan
Quinn M, Ueno Y , Pae HY, Huang L, Frampton G, Galindo C, Francis H, Horvat D, Millin MM, Morrow SD.	Suppression of the HPA axis during extrahepatic biliary obstruction induces cholangiocyte proliferation in the rat.	Ame J Physiol GI Liver.	302 (1)	182-193	2012 Jan
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Sone Y, Kaneoka Y, Maeda A.	Characteristics and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after the year 2000 in Japan.	J Gastroenterol Hepatol.	26 (12)	1765-1771	2011 Dec
Toyoda H, Kumada T , Tada T.	Highly sensitive Lens culinaris agglutinin-reactive	Oncology.	81 (Supp	S61-65	2011 Dec

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	alpha-fetoprotein (hs-AFP-L3): a new tool for the management of hepatocellular carcinoma.		11)		
Murakami T, Imai Y , Okada M, Hyodo T, Lee WJ, Kim MJ, Kim T, Choi B.I.	Ultrasonography, Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging of Hepatocellular Carcinoma: Toward Improved Treatment Decisions.	Oncology.	81 (Supp 11)	86-99	2011 Dec
Fujino T, Nakamuta M, Aoyagi Y, Kohjima M, Satoh T, Fukuda M, Ishibashi H, Yatsuhashi H , Enjoji M.	Early dynamics of viremia in patients with genotype 1b chronic hepatitis C: Peg-IFNalpha2a shows earlier viral decline than peg-IFNalpha2b in combination therapy with ribavirin.	Med Sci Monit.	17 (12)	CR687 -691	2011 Dec
Uchiyama H, Mano Y, Taketomi A , Soejima Y, Yoshizumi T, Ikegami T, Shirabe K , Maehara Y.	Kinetics of anti-blood type isoagglutinin titers and B lymphocytes in ABO-incompatible living donor liver transplantation with rituximab and plasma exchange.	Transplantation.	92 (10)	1134-1 139	2011 Nov
Miyaaki H, Ichikawa T, Yatsuhashi H , Taura N, Miura S, Usui T, Mori S, Kamihira S, Tanaka Y , Mizokami M , Nakao K.	Suppressor of cytokine signal 3 and IL28 genetic variation predict the viral response to peginterferon and ribavirin.	Hepatol Res.	41 (12)	1216-1 222	2011 Dec
Francis HL, DeMorrow S, Franchitto A, Venter JK, Mancinelli RA, MA White, Meng F, Ueno Y , Carpino G, Renzi A, Baker KK, Shine HE, Francis TC, Gaudio E, Alpini GD, Onori P.	Hepatic and Pancreatic Systems Histamine stimulates the proliferation of small and large cholangiocytes by activation of both IP ₃ /Ca ²⁺ and cAMP-dependent signaling mechanisms.	Lab Invest.	92	282-29 4	2011 Nov

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hiramatsu N, Inoue Y, Oze T, Kurashige N, Yakushijin T, Mochizuki K, Miyagi T, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Imai Y , Hayashi N.	Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for hepatitis C patients with normal ALT levels: a matched case-control study.	J Gastroenterol.	46 (11)	1335-1343	2011 Nov
Sugiyama M, Tanaka Y , Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M .	Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression.	PLoS One.	6 (10)	e26620	2011 Oct
Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M , Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Yatsubashi H , Izumi N .	Age and total ribavirin dose are independent predictors of relapse after interferon therapy in chronic hepatitis C revealed by data mining analysis.	Antivir Ther.	17 (1)	35-43	2011 Oct
Matsushima-Nishiwaki R, Adachi S, Yoshioka T, Yasuda E, Yamagishi Y, Matsuura J, Muko M, Iwamura R, Noda T, Toyoda H, Kaneoka Y, Okano Y, Kumada T , Kozawa O.	Suppression by heat shock protein 20 of hepatocellular carcinoma cell proliferation via inhibition of the mitogen-activated protein kinases and AKT pathways.	J Cell Biochem.	112 (11)	3430-3439	2011 Nov
Ebinuma H, Saito H, Komuta M, Ojio K, Wakabayashi K, Usui S, Chu PS, Umeda R, Ishibashi Y, Takayama T, Kikuchi M,	Evaluation of liver fibrosis by transient elastography using acoustic radiation force impulse: comparison with Fibroscan (R).	J Gastroenterol.	46 (10)	1238-1248	2011 Oct

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamoto N, Yamagishi Y, Kanai T, Ohkuma K, Sakamoto M , Hibi T.					
Suzuki H, Murata K, Gotoh T, Kusano M, Okano H, Oyamada T, Yasuda Y, Imamura M, Kudo M, Mizokami M , Sakamoto A.	Phenotype-dependent production of des-gamma-carboxy prothrombin in hepatocellular carcinoma.	J Gastroenterol.	46 (10)	1219-1229	2011 Oct
Nakamura I, Tanaka Y , Ochiai K, Moriyasu F, Mizokami M , Imawari M.	Clarification of interspousal hepatitis C virus infection in acute hepatitis C patients by molecular evolutionary analyses: Consideration on sexual and non-sexual transmission between spouses.	Hepatol Res.	41 (9)	838-845	2011 Sep
Sugiyama M, Inui A, Shin-I T, Komatsu H, Mukaide M, Masaki N, Murata K, Ito K , Nakanishi M, Fujisawa T, Mizokami M .	Easy-to-use phylogenetic analysis system for hepatitis B virus infection.	Hepatol Res.	41 (10)	936-945	2011 Oct
Kuno A , Ikehara Y, Tanaka Y , Saito K , Ito K , Tsuruno C, Nagai S, Takahama Y, Mizokami M , Hirabayashi J, Narimatsu H .	LecT-Hepa: A triplex lectin-antibody sandwich immuneassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis assisted by a bedside clinical chemistry analyzer and an automated pretreatment machine.	Clin Chim Acta.	412 (19-20)	1767-1772	2011 Sep
Furui Y, Hoshi Y, Murata K, Ito K , Suzuki K, Uchida S, Satake M, Mizokami M , Tadokoro K.	Prevalence of Amino acid mutation in hepatitis C virus core region among Japanese volunteer blood donors.	J Med Virol.	83 (11)	1924-1929	2011 Nov

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Toyoda H, Kumada T , Kiryama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T.	Markedly lower follow-up rate after liver biopsy in patients with non-alcoholic fatty liver diseases than those with viral hepatitis in Japan.	BMC Res Note.	4	341	2011 Sep
Hayashi K, Katano Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Toyoda H, Kumada T , Goto H.	Association of interleukin 28B and mutations in the core and NS5A region of hepatitis C virus with response to peg-interferon and ribavirin therapy.	Liver Int.	31 (9)	1359-1 365	2011 Sep
Tanaka Y , Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H , Nishiguchi S, Hino K , Hige S , Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N , Tokunaga K, Mizokami M .	Genome-wide association study identified ITPA/DDR1GK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C.	Hum Mol Genet.	20 (17)	3507-3 516	2011 Sep
Toyoda H, Kumada T , Kaneoka Y, Maeda A.	Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are associated with post-operative recurrence and survival of patients with HCV genotype 1b-associated hepatocellular carcinoma.	Ann Surg.	254 (2)	326-33 2	2011 Aug
Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Fukui H, Hijioka T, Katayama K,	Efficacy of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan.	J Gastroenter ol.	46 (8)	1031-1 037	2011 Aug

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y , Hayashi E, Kato M, Hosui A, Miyagi T, Ishida H, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.					
Kumada T , Toyoda H, Arakawa T, Sone Y, Fujimori M, Ogawa S, Ishikawa T.	Evolution of Hypointense Hepatocellular Nodules Observed Only in the Hepatobiliary Phase of Gadoxetate Disodium-Enhanced MRI.	Am J Roentogenol	197	58-63	2011 Jul
Toyoda H, Kumada T , Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F.	Antiviral combination therapy with peginterferon and ribavirin does not induce a therapeutically resistant mutation in the HCV core region regardless of genetic polymorphism near the IL28B gene.	J Med Virol.	83 (9)	1559-1564	2011 Jul
Tsuchiya K, Komuta M, Yasui Y, Tamaki N, Hosokawa T, Ueda K, Kuzuya T, Itakura J, Nakanishi H, Takahashi Y, Kurosaki M, Asahina Y, Enomoto N, Sakamoto M, Izumi N .	Expression of Keratin 19 Is Related to High Recurrence of Hepatocellular Carcinoma after Radiofrequency Ablation.	Oncology.	80	278-288	2011 Jul
Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Imanaka K, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Hagiwara	The efficacy of extended treatment with pegylated interferon plus ribavirin in patients with HCV genotype 1 and slow virologic response in	J Gastroenterol.	46 (7)	944-952	2011 Jul

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
H, Mita E, Ito T, Nagase T, Inui Y, Hijioka T, Tamura S, Yoshihara H, Hayashi E, Imai Y , Kato M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.	Japan.				
Sa-Nguanmoo P, Tanaka Y , Ratanakorn P, Sugiyama M, Murakami S, Payungporn S, Sommanustweechai A, Mizokami M , Poovorawan Y.	Cross-species transmission of gibbon and orangutan hepatitis B virus to uPA/SCID mice with human hepatocytes.	Virus Res.	158 (1-2)	209-21 5	2011 Jun
Ninomiya M, Ueno Y , Shimosegawa T.	PBC: Animal Models of Cholangiopathies and Possible Endogenous Viral Infections.	Int J Hepatol.	2012	Article ID:649 290, 6 pages	2011 Jun
Makino Y, Imai Y , Fukuda K, Seki Y, Kogita S, Sawai Y, Igura T, Kurokawa M, Takamura M.	Sonazoid-enhanced ultrasonography for the diagnosis of an intrapancreatic accessory spleen: a case report.	J Clin Ultrasound.	39 (6)	344-34 7	2011 Jul
Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arii S, Imai Y , Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, Kawata S, Uto H, Takami S, Sumida Y, Takamura T, Kawanaka M, Okanoue	Characteristics of Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis Who Develop Hepatocellular Carcinoma.	Clin Gastroenter ol Hepatol.	9 (5)	428-43 3	2011 May

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
T; Japan NASH Study Group, Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan.					
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Kaneoka Y, Maeda A, Kanke F, Satomura S.	Clinical utility of highly sensitive Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma patients with alpha-fetoprotein <20 ng/mL.	Cancer Sci.	102 (5)	1025-1031	2011 May
Toyoda H, Kumada T , Tada T, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F.	Impact of genetic polymorphisms near the IL28B gene and amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region on interferon sensitivity/resistance in patients with chronic hepatitis C.	J Med Virol.	83 (7)	1203-1211	2011 Jul
Ito K , Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S , Adachi H, Hino K , Yatsuhashi H , Orito E, Kani S, Tanaka Y , Mizokami M .	The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B.	J Clin Microbiol.	49 (5)	1853-1860	2011 May
Matsuura K, Tanaka Y , Kusakabe A, Hige S , Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K , Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S,	Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial.	Hepatol Res.	41 (6)	505-511	2011 Jun

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Joh T, Mizokami M.					
Kurosaki M, Tanaka Y , Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Matsuura K, Sugauchi F, Enomoto N, Nishida N, Tokunaga K, Mizokami M, Izumi N.	Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin.	Antivir Ther.	16	685-69 4	2011 May
Onomoto K, Morimoto S, Kawaguchi T, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Uno K, Kumada T , Matsuda F, Shimotohno K, Fujita T, Murakami Y.	Dysregulation of IFN System Can Lead to Poor Response to Pegylated Interferon and Ribavirin Therapy in Chronic Hepatitis C.	PLoS ONE.	6 (5)	e1979 9	2011 May
Shirabe K , Takeishi K, Taketomi A , Uchiyama H, Kayashima H, Maehara Y.	Improvement of long-term outcomes in hepatitis C virus antibody-positive patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy in the modern era.	World J Surg.	35 (5)	1072-1 084	2011 May
Toshima T, Shirabe K , Takeishi K, Motomura T, Mano Y, Uchiyama H, Yoshizumi T, Soejima Y, Taketomi A , Maehara Y.	New method for assessing liver fibrosis based on acoustic radiation force impulse: a special reference to the difference between right and left liver.	J Gastroenter ol.	46 (5)	705-71 1	2011 May
Tatematsu K, Tanaka Y , Sugiyama M, Sudoh M, Mizokami M.	Host sphingolipid biosynthesis is a promising therapeutic target for the inhibition of hepatitis B	J Med Virol.	83 (4)	587-59 3	2011 Apr

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	virus replication.				
Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Fukui H, Inui Y, Hijioka T, Inada M, Kaytayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y , Kato M, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N.	Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy.	J Hepatol.	54 (4)	604-611	2011 Apr
Toyoda H, Kumada T , Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Arakawa T, Fujimori M, Niinomi T, Ando N, Yasuda S, Sakai K, Kimura J.	High ability to predict the treatment outcome of peginterferon and ribavirin combination therapy based on the reduction in HCV RNA levels at 4 weeks after starting therapy and amino acid substitutions in hepatitis C virus in patients infected with HCV genotype 1b.	J Gastroenterol.	46 (4)	501-509	2011 Apr
Kumada T , Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J, Yoshizawa H.	Predictive value of tumor markers for hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C virus.	J Gastroenterol.	46 (4)	536-544	2011 Apr
Kanathezhath B, Mizokami M , Stanislaus S, Hounshell C, Neumayr L, Guo H, Hearst JE, Walters MC,	Improved engraftment with minimal graft-versus-host disease after major histocompatibility complex-mismatched cord blood	Exp Biol Med (Maywood).	236 (4)	492-504	2011 Apr

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kuypers FA.	transplantation with photochemically treated donor lymphocytes.				

総説

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Miyazaki M, Yamada A, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Fukui H, Inui Y, Hijioka T, Inada M, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y , Hayashi E, Kato M, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kasahara A, Hamasaki T, Hayashi N, Takehara T; the Osaka Liver Forum.	Post-treatment levels of -fetoprotein predict Incidence of hepatocellular carcinoma after interferon therapy.	Clin Gastroenterol Hepatol.	In press.		2013 Dec
Mizokami M.	Discovery of critical host factor, IL-28B, associated with response to HCV treatment.	J Gastroenterol Hepatol.	27 (3)	425-429	2012 Mar

総説 (和文)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
豊田 秀徳、 熊田 卓 .	HCV 治療後発癌例の解析 (C 型肝炎治療 2014:経口抗ウイルス薬時代の到来, HCV 駆除後肝発癌の対策).	肝胆膵.	67 (6)	1035-1039	2013 Dec
髙 修平 、木村 睦海、荒川 智宏、小関 至、狩野 吉康、豊田 成司.	肝線維化の定量的測定 (検査値の読み方 連載).	臨床消化器内科.	28 (13)	1783-1788	2013 Dec
多田 俊史、 熊田 卓 、豊田 秀徳.	超高齢肝細胞癌患者に対する治療法の選択と予後 -後期高齢者との	The Liver Cancer	5 (4)	268-272	2013 Dec

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	比較検討-	Journal.			
山本 健太、 熊田 卓 、桐山 勢生、谷川 誠、久永康宏、豊田 秀徳、金森 明、多田 俊史、北島 秀介、長谷川 綾平、伊藤 隆徳、安藤 祐資、颯田 祐介、田中 達也、曾根 康博、福里 利夫.	肝細胞癌と鑑別が困難であった reactive lymphoid hyperplasia の 1 例.	肝臓.	54 (11)	755-76 4	2013 Nov
多田 俊史、 熊田 卓 、豊田 秀徳.	C 型肝硬変例における分岐鎖アミノ酸製剤と肝発癌との関連 -Propensity score 分析を用いた検討-	消化と吸収.	35 (3)	290-29 4	2013 Jul
松田 厚志、 久野 敦 成 松 久 、監修：第 62 回日本医学検査学会記念誌編集委員会.	グライコプロテオミクスによる臨床糖鎖腫瘍マーカー開発 -グライコームからグライコプロテオームへ.	検査診断学への展望 - 臨床検査指針：測定とデータ判読のポイント-			2013 May
熊田 卓 、多田 俊史、金森 明、豊田 秀徳、乙部 克彦、川島 望、今吉 由美、竹島 賢治.	肝腫瘍の造影超音波診断：鑑別診断 (CEUS Trend View 2013 造影超音波検査の有用性と適応のひろがり-肝腫瘍、乳腺腫瘍診断を中心に：他の領域への臨床応用の可能性も含めて-).	INNERVISI ON.	28 (3)	6-10	2013 Feb
安藤 直人、 熊田 卓 、多田 俊史.	高齢 C 型肝炎患者の肝脂肪癌サーベイランスにおける注意点 -性差による検討-	日本消化器がん検診学会雑誌.	51 (1)	55-65	2013 Jan
土谷 薫、 泉 並木 .	II.肝臓 10.肝癌の画像診断.	Annual Review 消化器.	2013	148-15 7	2013 Jan
村田 一素、 溝上 雅史 .	II.肝臓 3.肝炎・肝癌の遺伝子研究.	Annual Review 消化器.	2013		2013 Jan

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
多田 俊史、 熊田 卓 、桐山 勢生、谷川 誠、豊田 秀徳、久永 康宏、金森 明、曾根 康博、小川 定信.	大垣市民病院における EOB-MRI の肝細胞相で検出される乏血性結節の自然経過.	肝胆膵画像.	14 (4) 増刊号	345-350	2012 Jun
熊田 卓 、豊田 秀徳、多田 俊史、金森 明、竹島 賢治、乙部 克彦.	4-2 造影超音波診断 (症例編) 肝細胞癌以外の肝腫瘍典型例.	Medical Technology.	別冊	43-58	2012 Jun
貴田岡 正史、 熊田 卓 、松田 康雄、飯島 尋子、小川 眞広、工藤 信樹、小原 和史、紺野 啓、高倉 玲奈、西田 睦、南 康範、森 秀明、山田 昌彦.	肝腫瘍の超音波診断基準.	超音波医学.	39 巻 3 号	317-326	2012 Jun
多田 俊史、 熊田 卓 、桐山 勢生、谷川 誠、豊田 秀徳、久永 康宏、金森 明、新家 卓郎、安東 直人、坂井 圭介、安田 諭、木村 純、安藤 祐資、山本 健太.	B 型肝炎に対する核酸アナログ投与例の長期予後 (特集 II B 型肝炎の抗ウイルス療法の進歩と耐性).	消化器内科.	54 (5)	608-613	2012 May
熊田 卓 .	肝機能性画像の幹細胞癌診断における役割.	西部 肝臓フォーラム'11 記録集.	2011 巻	205-217	2012 Mar
多田 俊史、 熊田 卓 、豊田 秀徳.	消化器癌のの見逃しを防ぐ-早期発見・適切な治療のための診断の実際 肝臓癌.	消化器の臨床.	15 (1)	75-81	2012 Feb
Mizokami M.	Discovery of critical host factor, IL-28B, associated with response to HCV treatment.	J Gastroenterol Hepatol.	27 (3)	425-429	2012 Mar
豊田 秀徳、 熊田 卓 .	HCV 治療後発癌 (特集 C 型肝炎のすべて 2012 HCV と発癌).	肝胆膵.	63 (6)	1009-1014	2011 Dec
久野 敦 、池原 譲、 成松 久 .	グライコプロテオミクスを基軸とした腫瘍マーカー開発技術 (特集 分子腫瘍マーカー : 治療標的と経過指標として).	月刊カレントセラピー (ライフメディコム).	29 (12)	56-60	2011 Dec

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
多田 俊史、 熊田 卓 、桐山 勢生、谷川 誠、久永康宏、豊田 秀徳、金森 明.	混合型肝癌の臨床・生化学的特徴 (特集 混合型肝癌および胆管形質を示す肝細胞癌・肝stem細胞のインパクト).	肝胆膵.	63 (4)	573-582	2011 Oct
坂井 圭介、 熊田 卓 、豊田 秀徳、桐山 勢生、谷川 誠、久永康宏、金森 明、多田 俊史、新家 卓郎、安東 直人、安田 諭、安藤 祐資、山本 健太、木村 純.	肝発癌を視野に入れた B 型肝炎の治療戦略 (特集 II B 型肝炎に対する新治療戦略).	消化器内科.	53 (3)	326-330	2011 Sep
多田 俊史、 熊田 卓 、桐山 勢生、谷川 誠、豊田 秀徳、久永康宏、金森 明、曾根 康博、小川 定信.	Dynamic MRI による治療効果判定 (特集 肝細胞癌の化学療法-分子標的治療の進歩と効果判定 各論、肝細胞癌の化学療法の治療効果判定).	肝胆膵画像.	13 (6)	619-626	2011 Sep
熊田 卓 、豊田 秀徳、多田 俊史.	早期肝細胞癌の治療の開始時期について (特集 早期肝細胞癌・病理と画像の interplay).	肝臓.	52 (7)	441-448	2011 Aug
熊田 卓 、豊田 秀徳、多田 俊史.	高齢者 C 型肝炎では ALT 低値、血小板高値でも発癌する (Session 3 C 型肝炎).	肝炎・肝癌の新しい診断と治療-第 28 回犬山シンポジウム記録集.		125-130	2011 Jun
竹島 賢治、高橋 健一、乙部 克彦、加藤 廣正、今吉 由美、川島 望、坂野 信也、 熊田 卓 、豊田 秀徳、多田 俊史、安東 直人.	結節型肝細胞癌の B-モード所見および造影超音波による染影パターンと肉眼所見の対比 (肝疾患における最新の超音波診断 第 29 回超音波ドプラ研究会臨床研究集、主題演題 肝癌の精密診断・肉眼型・分化度・進展度診断).	Rad Fan.	9 (6)	66-68	2011 May